



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN INGENIERÍA Y CIENCIAS BÁSICAS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES
BIOFÍSICAS DE NANOMATERIALES EN LA
NANOAGROBIOTECNOLOGÍA.**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORADO EN INGENIERÍA Y
CIENCIAS APLICADAS**

PRESENTA:

MAGDALENA GONZÁLEZ ALEJANDRE

DIRECTORES:

DRA. VIVECHANA AGARWAL

DRA. NABANITA DASGUPTA-SCHUBERT

SINODALES:

DRA. MARÍA ELENA NICHÓ DÍAZ

DR. JOSÉ GONZALO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

DR. MIGUEL MARTÍNEZ TRUJILLO

CUERNAVACA, MORELOS

MAYO 2022

El presente trabajo se realizó en los **Laboratorios de Semiconductores y Nanoestructuras (LOSAN)** por sus siglas en inglés del Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas (**CIICAp**) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (**UAEM**), en el laboratorio de **Genética y Microbiología “Miguel Martínez Trujillo”** y **Edafología “Martha Bustos Zagal”** de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (**UMSNH**), bajo la Dirección de la **Dra. Vivechana Agarwal** y la **Dra. Nabanita Dasgupta-Shubert** y la colaboración del **Dr. Miguel Martínez Trujillo** y el **MC. Juan Carlos González Cortés**, contando con el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) de la beca doctoral de Magdalena González Alejandre (CVU # 589591) y del financiamiento parcial de los experimentos de una beca otorgada por el (**CONACYT**) la Dra. Vivechana Agarwal (Proyecto # AS1 30393).

ABSTRACT

In the present work it has been possible to know more in detail the nanomaterials from their synthesis, characterization and their different applications, being of importance for this work the applications in agrobiolology. It is of our interest to evaluate the effect of climate change on the vigor and development of corn seeds (*Zea mays*) hybrid "Albatros" (it is considered a hybrid because it presents homogeneity in its germination process and is considered the ideal model to measure the variables of interest for this study), in addition to evaluating the effect and interaction of AuNPs and MWCNT with the interest of generating a proposal for the use of nanomaterials in agrobiotechnology with bases based on clear evidence of the behavior between nanomaterial-soil-seed- seedling

Seeds are among the organisms most vulnerable to the extreme temperatures predicted in certain models of global warming. The objective of this work is to examine the possibility of nanomaterial-assisted restoration of germination and vigor of heat-damaged hybrid maize (*Zea mays "Albatros"*) seeds through a study of the percentage of germination and growth after a treatment of aging at high temperatures. The thermal treatment or dose of exposure to high temperatures was dry heat at 60, 65, 70 and 80°C, from 1 to 21 days of exposure. After treatment, the germination capacity of the seeds was evaluated. Seed germination percentage and seedling growth rates were studied in the presence/absence of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) and our laboratory synthesized and characterized (SEM, DLS, FTIR, UV-Vis) MWCNT nanoparticles. gold (AuNPs). In general, the MWCNTs outperformed the AuNPs. The apparently erratic results of germination were rationalized from the point of view of the biomechanics of water ingress in seeds with heat-damaged seed coats. Ficksian diffusion calculations applied to the interstitial channels of the seed coat and cell wall showed that the former, but not the

latter, was an effective barrier to MWCNT entry and that both readily allowed water ingress. For seeds exposed to long-duration heat exposure at 60°C, the MWCNT treatments appear to catalyze seed and seedling recovery, promote biomass and root-to-shoot water transport, while the parabolic biomass trend for 40–60°C, suggests opposing temperature-regulated factors that possibly involve reactive oxygen species. In summary, the growth indices of heat-damaged seeds show a strong non-monotonic dose dependence in which MWCNT significantly altered the response, catalyzing the recovery of the high-heat "dose" ensemble. These results are promising for the application of nanoagrobiotechnology in agriculture in the scenario of global warming.

Keywords: carbon nanotubes, gold nanoparticles, Maize · Thermal aging · Diffusion · Nanoagrobiotechnology .

RESUMEN

En el presente trabajo se ha logrado conocer más a detalle los nanomateriales desde su síntesis, caracterización y sus diferentes aplicaciones, siendo de importancia para este trabajo las aplicaciones en la agrobiología. Es de nuestro interés evaluar el efecto del cambio climático en el vigor y desarrollo de semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido "Albatros" (se considera un híbrido debido a que presenta homogeneidad en su proceso de germinación y se considera el modelo ideal para medir las variables de interés para este estudio), además de evaluar el efecto e interacción de AuNPs y MWCNT con el interés de generar una propuesta para la utilización de nanomateriales en la agrobiotecnología con bases fundamentadas en evidencias claras del comportamiento entre nanomaterial-suelo-semilla-plántula.

Las semillas se encuentran entre los organismos más vulnerables a las temperaturas extremas previstas en ciertos modelos de calentamiento global. Este trabajo tiene como objetivo examinar la posibilidad del restablecimiento de la germinación y vigor asistido por nanomateriales de semillas híbridas de maíz (*Zea mays* "Albatros") dañadas por el calor a través de un estudio del porcentaje de germinación y crecimiento después de un tratamiento de envejecimiento a altas temperaturas. El tratamiento térmico o dosis de exposición a altas temperaturas fue de por calor seco a 60, 65, 70 y 80°C, de 1 a 21 días de exposición. Tras el tratamiento, se evaluó la capacidad germinativa de las semillas. El porcentaje de germinación de las semillas y los índices de crecimiento de las plántulas se estudiaron en presencia/ ausencia de nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWCNT) y nuestro laboratorio sintetizó y caracterizó (SEM, DLS, FTIR, UV-Vis) nanopartículas de oro (AuNPs). En general, el MWCNT superó al AuNPs. Los resultados aparentemente erráticos de la germinación se racionalizaron desde el punto



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



de vista de la biomecánica de la entrada de agua en las semillas con cubiertas dañadas por el calor. Los cálculos de difusión fickiana aplicados a los canales intersticiales de la cubierta de la semilla y la pared celular mostraron que el primero, pero no el segundo, era una barrera eficaz para la entrada de MWCNT y que ambos permitían fácilmente la entrada de agua. Para las semillas que han estado expuestas al calor a 60°C durante mucho tiempo los tratamientos MWCNT parecen catalizar la recuperación de las semillas y plántulas, promueven la biomasa y el transporte de agua de la raíz al brote, mientras que la tendencia de la biomasa parabólica para 40–60°C durante corto tiempo, sugiere factores opuestos regulados por la temperatura que posiblemente involucren especies reactivas de oxígeno. En resumen, los índices de crecimiento de las semillas dañadas por el calor muestran una fuerte dependencia de la dosis no monótona en la que el MWCNT alteró significativamente la respuesta, catalizando la recuperación del conjunto de "dosis" de calor alto. Estos resultados son prometedores para la aplicación de la nanoagrobiotecnología en la agricultura en el escenario del calentamiento global.

Palabras clave: nanotubos de carbono, nanopartículas de oro, Maíz ·
Envejecimiento térmico · Difusión · Nanoagrobiotecnología.

AGRADECIMIENTOS

- ♥ Agradecimiento total **a la vida** por darme la oportunidad de cumplir mi sueño.
- ♥ Un agradecimiento muy especial a mis asesoras: **Dra. Vivechana Agarwal** y **Dra. Nabanita Dasgupta-Schubert** por darme la oportunidad de trabajar en su equipo de investigación, por su paciencia, por compartirme de sus conocimientos y total apoyo para la realización de esta investigación.
- ♥ Al comité tutorial: **Dra. María Elena Nicho Díaz** y **Dr. Gonzalo González Domínguez**, por darme de su tiempo, que para mí es muy valioso, sus observaciones y recomendaciones que le aportaron mucho a esta investigación.
- ♥ Al **Dr. Miguel Martínez Trujillo**, por su apoyo, por su colaboración, su paciencia, por su conocimiento compartido, por impulsarme, por su ejemplo.
- ♥ Al **MC. Juan Carlos González Cortés** por su valioso tiempo, su aporte a esta investigación, sus consejos, su conocimiento compartido y apoyo moral.
- ♥ A mis compañeros: **Josué Lara Zavala**, **Naveen Kumar**, quienes me apoyaron y me enseñaron a sintetizar y conocer lo bonito de la nanotecnología, en especial a **Sergio Sotelo** que me brindó apoyo para esta investigación, en trámites y en el laboratorio.
- ♥ A la **Dra. María de los Ángeles Beltrán Nambo**, por su apoyo en la parte experimental.
- ♥ A **Bióloga. Mayra Silva** por su apoyo, su compañía y amistad.
- ♥ A mi hija **Cristina Rico González**, que pacientemente me ha acompañado en esta aventura, que colaboró en la parte experimental, su apoyo moral, su amor.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



- ♥ A mi familia que me han dado su apoyo incondicional, a mi **Mamá** y a mi **Papá**, a mis hermanos: **Ino, Mimí y Gis**.
- ♥ Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) por otorgarme la beca doctoral (CVU # 589591).

DEDICATORIAS

Nunca pensé que aquel sueño que,
Imaginaba cuando era niña
En este momento lo esté
Viviendo, aunque tú no estés físicamente
Estás presente en mí,
Siempre te recordaré; va por ti:

Abuelito

Siempre es bueno superarse cada día,
Ser mejor en cada parte que compone nuestro ser,
Y por lo general esta superación viene acompañada de una
inspiración
Para mi eres tú bolita, eres lo que me inspira para ser
mejor cada día,
En todos los sentidos y demostrarte que los sueños son
alcanzables
Y que hoy mi sueño lo vivo acompañada de ti y para ti,
¡Eres lo que **más amo** en este mundo!
A mi hija:
Cristina Rico González



ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.	17
1.1 INTRODUCCIÓN.	17
1.2 ANTECEDENTES.	17
1.2.1 Cambio climático.	17
1.3 JUSTIFICACIÓN.	21
1.4 HIPÓTESIS.	21
1.5 OBJETIVOS.	22
1.5.1 Objetivo general.	22
1.5.2 Objetivos específicos.	22
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	23
2.1 NANOTECNOLOGÍA Y NANOMATERIALES.	23
2.1.1 Nanomateriales.	24
2.1.2. NANOMATERIALES DE INTERÉS PARA ESTA LINEA DE INVESTIGACIÓN.	28
2.1.2.1. Nanopartículas de oro (AuNPs por sus siglas en inglés).	28
2.1.2.2. Nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT).	30
2.1.2.3. Puntos cuánticos (C-Dots).	32
2.1.3. SÍNTESIS DE NANOMATERIALES.	34
2.1.3.1. Método coloidal.	36
2.1.3.2. Anodización electroquímica.	39
2.1.3.3. Deposición Química de Vapor (CVD por sus siglas en inglés).	40
2.1.3.4. Hidrotermal.	41
2.1.4 CARACTERIZACIÓN DE NANOMATERIALES.	42
2.1.4.1 Microscopio electrónico de barrido.	44
2.1.4.2. Espectroscopia UV-vis.	45
2.1.4.3 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier.	47
2.1.4.4. Dispersión de luz dinámica.	48
2.2 ENVEJECIMIENTO ACELERADO DE SEMILLAS DE MAÍZ (ZEA MAYS).	50



2.2.1 El maíz y sus generalidades.....	50
2.2.2 Estructura de la semilla.....	53
2.2.3 Proceso de germinación.....	55
2.2.4 Envejecimiento acelerado de semillas.....	58
CAPITULO III. PARTE EXPERIMENTAL.....	62
3.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOTUBOS DE TITANIO POR ANODIZACIÓN ELECTROQUÍMICA.....	62
3.2 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO (AuNPs).....	63
3.3 INTERACCIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (ZEA MAYS) “ALBATROS” VIABLES Y ENVEJECIDAS ARTIFICIALMENTE POR CALOR CON CNT.....	64
3.4. EFECTO DE MWCNT Y AuNPs EN EL PROCESO DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (ZEA MAYS) CON ENVEJECIMIENTO ACELERADO CON CALOR SECO.....	65
3.4.1 Material biológico.....	65
3.4.2 Desinfección de las semillas.....	65
3.4.3 Envejecimiento artificial de semillas por calor seco.....	65
3.4.4 Diseño experimental.....	66
3.4.5 Síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs).....	66
3.4.6 Germinación de las semillas.....	67
3.5 ESTANDARIZACIÓN DEL ENVEJECIMIENTO POR CALOR SECO EN SEMILLAS DE MAÍZ (ZEA MAYS).....	67
3.5.1 Desinfección de las semillas.....	67
3.5.2 Envejecimiento artificial de semillas por calor seco.....	67
3.5.3 Extracción, tinción y observación del embrión al microscopio.....	68
3.5.4 Germinación de las semillas.....	69
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	70
4.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOTUBOS DE TITANIO POR ANODIZACIÓN ELECTROQUÍMICA.....	70
4.2 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO (AuNPs).....	70
4.3 INTERACCIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (ZEA MAYS) “ALBATROS” VIABLES Y ENVEJECIDAS ARTIFICIALMENTE POR CALOR CON CNT.....	72



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



4.4 PRUEBA DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (ZEA MAYS) HÍBRIDO “ALBATROS” EXPUESTAS A NTC Y AuNPs.....	75
4.5 ESTANDARIZACIÓN DEL ENVEJECIMIENTO POR CALOR SECO EN SEMILLAS DE MAÍZ (ZEA MAYS).	78
4.5.1 Análisis de daño físico en embrión de semillas de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” causado por envejecimiento acelerado por calor seco. 	91
4.5.2. Apariencia de la semilla con y sin tratamiento térmico.	92
CAPITULO V. CONCLUSIONES FINALES Y RECOMENDACIONES.	96
REFERENCIAS	98
APENDICES	109
ANEXO 1	109



ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Clasificación de los nanomateriales basado en su dimensionalidad. Tomado de https://nuevastecnologiasymateriales.com/clasificacion-de-los-nano-materiales/.....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 2.- Colores de nanopartículas de oro monodispersos de varios tamaños. Tomada de Kummar 2020.</i>	<i>29</i>
<i>Figura 3. Enrollamiento de la lámina de carbonos para obtener un nanotubo de carbono. Tomada de (Sulabha K. Kulkarni, 2015).</i>	<i>30</i>
<i>Figura 4. Se muestran los tres tipos de nanotubos de carbono tomada de Rajendra Kumar Goyal. 2018 (De Dervishi E. et al. 2009. Particul. ciencia Tecnología 27: 107–125. Reproducido con autorización de Taylor & Francis Group.....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 5. Fluorescencia de C-Dots de diferentes tamaños.</i>	<i>34</i>
<i>Figura 6. Estabilización por formación de doble capa electroquímica Tomada de Nanotechnology: Principles and Practices. Sulabha K. Kulkarni p.92.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 7. Un reactor químico típico para sintetizar nanopartículas Tomada de Nanotechnology: Principles and Practices. Sulabha K. Kulkarni p.88.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 8. Formación regular de nanotubos de TiO₂. A) Reacción catódica. B) Reacción anódica. C) Estado de transición de la capa de TiO₂. D) Formación de los nanotubos. (e) Nanotubos de TiO₂. Fuente: Minagar et al., 2012 “A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces”.....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 9.- Configuración básica del proceso de CVD tomada de (Rajendra Kumar Goyal. 2018). p.91.....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 10.- Esquema de una autoclave para la síntesis hidrotérmica tomada de https://www.researchgate.net/figure/A-schematic-diagram-of-solvothermal-synthesis-setup_fig4_337944364.....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 11 Diagrama esquemático típico que muestra la zona de interacción entre el haz de electrones primario y la superficie de la muestra tomada de Rajendra Kumar Goyal. 2018.....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 12. Muestra imágenes fotográficas digital de la configuración del instrumento de Espectroscopía de absorción UV-Visible, (b) componentes principales en línea de luz, y el recuadro muestra los diferentes volúmenes de cuarzo cubetas para mediciones de absorción (Reddy Bogireddy,2020). 46</i>	<i>46</i>
<i>Figura 13.- Imágenes fotográficas digital de la configuración del instrumento de espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier, y (b) componentes principales del camino óptico (Reddy Bogireddy, 2020).....</i>	<i>48</i>



Figura 14. Representación esquemática del desarrollo embrionario de la raíz primaria y de las raíces escutelares seminales en maíz. Formación de los diferentes tejidos y órganos a partir de las divisiones asimétricas del cigoto en el estado embrionario. 51

Figura 15. Fotografía comparativa de la plántula de maíz (Zea mays) (A) y Arabidopsis thaliana (B) de 14 días de edad. Las fotografías muestran la complejidad de la arquitectura de la raíz de la plántula de maíz comparada con A. thaliana. RP:Raíz primaria; RES: Raíz escutelar seminal; RC: Raíz de corona; RL: Raíz lateral. Fotografía adaptada de Hochholdinger y Zimmermann (2008). 52

Figura 16. Desarrollo del sistema radicular del maíz. Notar la emergencia de los diferentes tipos de raíces. (A) Germinación de semillas por 48 hrs, se puede apreciar la salida de la radícula (R). (B) A los tres días de edad se puede observar la emergencia de la raíz primaria (RP) a través de la coleoriza (CO) y de las raíces escutelares seminales (RES) que se desarrollan a partir del nodo escutelar (NE). (C) A los ocho días de edad se observa la formación de las raíces de corona o nodales (RC) en el nodo del coleoptilo (NC) y de raíces laterales sobre la RP. (D) A las seis semanas de edad se aprecia la formación de las raíces aéreas (RA) en los nodos del tallo. 52

*Figura 17. Corte transversal del grano de maíz (Zea mays). Tomada de http://www.gopixpic.com/655/estructuradelgranodemaiz/http://www*fao*org|docrep|t0395s|T0395S00*GIF/ 53*

Figura 18. Muestra una representación esquemática de un embrión de maíz (Zea mays) maduro. Tomada de Quero E. 2018. 54

Figura 19. Muestra semilla de maíz Zea mays híbrido “Albatros” a) sin germinar; b) germinada..... 55

Figura 20. Imágenes SEM de TNT a diferentes ampliaciones a) 30000x, b) 100000x, c) 200000x. Se observa que el diámetro interno es de entre 30 y 50 nm y el espesor de las paredes es de 20 nm. 70

Figura 21. A) Imagen de SEM de las nanopartículas de oro (AuNPs). B) Distribución del diámetro de las nanopartículas de oro (AuNPs) caracterizado por la técnica DLS. C) espectro del UV-Vis. D) Espectro del FTIR..... 71

Figura 22.- Fotografía tomada a los 15 días después de la siembra. Se muestra las plantas de maíz (Zea mays) sembradas en MS+CNT (a); plantas sembradas en MS (b). Las etiquetas muestran el tratamiento al cual fueron envejecidas artificialmente. 75

Figura 23.- Fotografía tomada a los 13 días después de la siembra donde se puede apreciar las semillas germinadas para cada tratamiento. 77



Figura 24.- Muestra la apariencia de las semillas de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” vistas en el estereoscopio marca Zeigen (A) sin tratamiento térmico, (B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días. 92

Figura 25.- Muestra la apariencia de los embriones de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” vistas en el estereoscopio marca Zeigen. A) sin tratamiento térmico, B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días. 93

Figura 26.- Muestra las partes que conforman al embrión de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” vistas en el estereoscopio marca Zeigen (A) sin tratamiento térmico, (B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días. 93

Figura 27. Micrografías tomadas en el microscópico compuesto marca Zeigen a 40 X muestra las células del tejido del escutelo en una semilla de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” (A) sin tratamiento térmico, (B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días. 94

Figura 28. Micrografías tomadas en el microscópico compuesto marca Zeigen a 40 X muestra las células del tejido del escutelo en una semilla de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” A) sin tratamiento térmico, B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días. 95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Definiciones de nanomaterial establecidas por entes internacionales. 24

Tabla 2. Muestra los tratamientos térmicos para cada grupo de semillas seleccionadas para la prueba de germinación. 64

Tabla 3.- Tabla que muestra los diferentes tratamientos térmicos a los que fueron expuestas las semillas de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros”. 68

Tabla 4. Muestra el número de semillas germinadas de un total de 20 a diferentes tratamientos de envejecimiento y expuestas a MWCNT y a AuNPs. 75

Tabla 5.- Muestra los valores obtenidos de VG y tG para las semillas de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” con los datos obtenidos del número de semillas germinadas por día hasta los 6 días después de la siembra. 89



INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.- Muestra el porcentaje total de semillas germinadas en nueve días.	73
Gráfica 2.- Muestra la cantidad de agua captada promedio en plantas de maíz (Zea mays) sembradas en MS y MS+CNT (en barras) y la biomasa promedio de plantas sembradas en MS y MS+CNT (líneas).	73
Gráfica 3.- Muestra el porcentaje de germinación de las semillas de maíz híbrido “Albatros” a diferentes tratamientos de envejecimiento y expuestas a MWCNT y AuNPs.	77
Gráfica 4.- Efecto del tratamiento térmico en el porcentaje de germinación total acumulada. A) H ₂ O, B) MS. Muestra la germinación acumulada al séptimo día después de la siembra de las semillas de maíz con diferente tratamiento térmico. Muestra la disminución del porcentaje de germinación respecto al control para cada tratamiento térmico.	81
Gráfica 5.- Muestra la germinación diaria de semillas de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” después del tratamiento térmico de envejecimiento por calor seco a 60°C; a) H ₂ O, b) MS.	85
Gráfica 6.- Muestra la germinación diaria de semillas de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” después del tratamiento térmico de envejecimiento por calor seco a 65°C; a) H ₂ O, b) MS.	86
Gráfica 7.- Muestra la germinación diaria de semillas de maíz (Zea mays) híbrido “Albatros” después del tratamiento térmico de envejecimiento por calor seco a 70°C; a) H ₂ O, b) MS.	87



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.

1.1 INTRODUCCIÓN.

En el presente trabajo se ha logrado conocer más a detalle los nanomateriales desde su síntesis, caracterización y sus diferentes aplicaciones, siendo de importancia para este trabajo las aplicaciones en la agrobiología. Es de nuestro interés evaluar el efecto del cambio climático en el vigor y desarrollo de semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido "Albatros" (se considera un híbrido debido a que presenta nula variabilidad genética y es el modelo ideal para medir variables para este estudio), además de evaluar el efecto e interacción de AuNPs y MWCNT con el interés de generar una propuesta para la utilización de nanomateriales en la agrobiotecnología con bases fundamentadas en evidencias claras del comportamiento entre nanomaterial-suelo-semilla-plántula.

1.2 ANTECEDENTES.

1.2.1 Cambio climático.

Por "cambio climático" (CC) se entiende un cambio de clima atribuido directa o indirectamente a la actividad humana que altera la composición de la atmósfera mundial y que se suma a la variabilidad natural del clima observada durante períodos de tiempo comparables y por "efectos adversos del cambio climático" se entiende los cambios en el medio ambiente físico o en la biota resultantes del cambio climático que tienen efectos nocivos significativos en la composición, la capacidad de recuperación o la productividad de los ecosistemas naturales o sujetos a ordenación, o en el funcionamiento de los

sistemas socioeconómicos, o en la salud y el bienestar humanos (Convención marco de las naciones unidas sobre el cambio climático, 1992).

El clima es el factor dominante que interviene en la producción agrícola y determina los rendimientos finales de la cosecha, (Vázquez-Montenegro *et al.*, 2014). Los efectos de las variaciones en el clima sobre la producción de cultivos se presentan ampliamente de una región a otra, se espera que los cambios tengan grandes efectos, principalmente en zonas tropicales de países en desarrollo con regímenes de precipitación que se encuentran entre semiárido y húmedo (Cline, 2007), Citado por Iglesias & Medina (2009); (Morales -Casco y Zúniga-González. 2016).

El Panel Intergubernamental del Cambio Climático (IPCC) advirtió que el calentamiento para el 2100 será el peor que se haya esperado con un incremento de la temperatura probablemente de 1.8 a 4°C y un posible aumento de hasta 6.4°C.

El cambio climático es uno de los retos para los países en desarrollo y para la gente en condiciones de pobreza y de vulnerabilidad social, económica y ambiental, quienes con frecuencia se encuentran expuestos a desastres climatológicos y estrés climático.

Los riesgos por regiones

El IPCC identifica los siguientes riesgos clave para las diferentes regiones:

África: estrés hídrico, reducción de la producción de alimentos, expansión de las enfermedades.

Europa: inundaciones, disponibilidad de agua dulce, eventos de calor extremo.

Asia: inundaciones, mortalidad causada por el calor, escasez de alimentos y agua debido a sequías.

Australia: daños y pérdidas en las barreras de coral y otras especies, daños por inundaciones, daños costeros.

América del Norte: incendios forestales, extremos de calor, inundaciones.

América central y sur: escasez de agua, inundaciones urbanas, producción de alimentos.

Islas pequeñas: pérdida de modos de vida e infraestructuras, aumento del nivel del mar.

Las condiciones de vida y bienestar de millones de personas estarán en peligro en América Latina debido al cambio climático, algunos escenarios bajo esas condiciones proyectan una reducción en la producción de maíz para el 2055 de cerca de 15%, en promedio (Stern, 2006) (Morales -Casco y Zúñiga-González, 2016).

La reducción de la productividad agrícola ya es un hecho, y no solo en el maíz, sino que en la mayor cantidad de rubro que forman parte de la producción básica de alimentos, como el ajonjolí, sorgo, frijoles, arroz, café entre otros, de igual forma la proliferación de plagas y enfermedades son evidentes y resistentes en los cultivos antes mencionados (Morales -Casco y Zúñiga-González, 2016).

En el año 2009 el Banco Mundial señaló el impacto más directo e importante por los cambios graduales en la temperatura y la precipitación será en la agricultura en México (De la Torre, 2009).

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO por sus siglas en inglés) seguridad alimentaria “cuando



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana” (FAO, 2006).

El maíz es uno de los cultivos más importantes de México, la superficie cosechada al año 2006 fue de 13,7 millones de hectáreas, de las cuales el 90% es de maíz blanco, principalmente destinado al consumo humano (Peinado-Guevara, 2010).

México, por su ubicación geográfica, topografía y aspectos socioeconómicos, es especialmente vulnerable a los impactos de la variabilidad climática y al cambio climático. Los escenarios de clima para el año 2020 implican reducciones moderadas en la aptitud para el cultivo de maíz de temporal e incrementos en la superficie no apta de hasta 4.2% (Conde *et al.* 2006; SEMARTAN-INE, 2006).

El laboratorio de la Dra. Vivechana Agarwal CIICAP - Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, México tiene una amplia experiencia en la síntesis, caracterización y aplicación de nanomateriales. En colaboración con el Laboratorio de Biofísico-química y Estudios de Radiación (BER), de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Por otro lado, el trabajo previo realizado en el laboratorio BER-UMSNH ha demostrado que los Nanotubos de Carbono de Pared Múltiple (MWCNT, por sus siglas en inglés) es capaz de transportar agua y nutrientes iónicos a través de las barreras celulares de las plantas (Tiwari *et al.*, 2014; Tiwari *et al.* 2017), además de la colaboración de los laboratorios de Edafología “Martha Bustos Zagal” y Genética y Fisiología Vegetal “Dr. Miguel Martínez Trujillo”

pertenecientes a la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

Se han realizado estudios para conocer el efecto de nanomateriales en las plantas, algunos resultados sugieren que los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) aumentan la internalización a las células vegetales de agua y nutrientes, suponemos que, MWCNT pueden restablecer el daño causado por envejecimiento acelerado en las semillas, lo cual abre una posibilidad para evitar la pérdida de especies vegetales, además, algunos nanomateriales no han sido estudiados en este tipo de escenario lo cual genera una nueva línea de investigación para conocer la aplicación de algunos nanomateriales generando nuevo conocimiento y la posibilidad de mitigar los efectos del cambio climático en esta área de estudio.

1.3 JUSTIFICACIÓN.

El envejecimiento y la mortalidad de las semillas se ven acelerados por el calentamiento climático con graves consecuencias en el futuro para el suministro de alimentos, especialmente para los países del tercer mundo que se encuentran en la región tropical. Se han aplicado métodos físicos para el fortalecimiento de las semillas (De Sousa *et al.*, 2016). Pero hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio sobre el rejuvenecimiento de las semillas envejecidas mediante el uso de nanomateriales.

1.4 HIPÓTESIS.

El cambio climático tiene como consecuencia el incremento de la temperatura, generando estrés térmico en las semillas de maíz (*Zea mays*)

inhibiendo su germinación, el envejecimiento acelerado por calor seco en las semillas de maíz (*Zea mays*) puede restablecerse por la aplicación de nanomateriales mejorando la internalización de agua y nutrientes.

1.5 OBJETIVOS.

1.5.1 Objetivo general.

Sintetizar, caracterizar y evaluar las aplicaciones biofísicas de nanomateriales en semillas de maíz (*Zea mays*).

1.5.2 Objetivos específicos.

- (1) Sintetizar y caracterizar Titania mesoporosa por el método de Sol-Gel.
- (2) Sintetizar y caracterizar Nanotubos de Titania (TNT) mediante el método de anodización electroquímica.
- (3) Sintetizar y caracterizar AuNPs por el método de Turkevich.
- (4) Estandarización del envejecimiento acelerado por calor seco en semillas de maíz (*Zea mays*).
- (5) Evaluar el efecto de MWCNT y AuNPs en la germinación de semillas de maíz.
- (6) Estudiar las aplicaciones biofísicas y los efectos de los MWCNT y AuNPs en el proceso de germinación de semillas de maíz (*Zea mays*) con envejecimiento acelerado.

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 NANOTECNOLOGÍA Y NANOMATERIALES.

La demanda alimenticia de la población cada vez es mayor, cada región poblacional tiene como base alimenticia algún cereal, entre los más importantes se encuentra el arroz, trigo y el maíz, así como el garbanzo, entre otros. Un gran desafío es cumplir con esta demanda, existen varios factores que pueden modificar la producción mundial de alimentos, como, por ejemplo, la pérdida de suelos fértiles, las reservas de aguas de riego no son suficientes debido a la contaminación de las mismas, el cambio climático, viabilidad y vigor de las semillas, son algunos. Para afrontar este reto es necesario un estudio colaborativo entre diferentes ciencias que en conjunto puedan dilucidar herramientas eficientes y sustentables, que, además de aumentar la producción, sea de alto contenido nutrimental y sustentable.

La **nanotecnología** es una ciencia que manipula la materia a una escala atómica y molecular, permite crear tecnología emergente para la resolución de problemas. Es una ciencia aplicable en diferentes campos como la medicina, la ingeniería, la informática, óptica, electrónica y más recientemente la agricultura y alimentos. La **nanobiotecnología** se refiere a la aplicación de la nanotecnología en los biosistemas con el fin de comprender de los procesos biológicos a escala nanométrica y molecular, mejorando los nanomateriales para su uso en sistemas biológicos. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el uso de nanomateriales puede generar algunos riesgos en la salud.

2.1.1 Nanomateriales.

Diversas definiciones de nanomateriales han sido propuestas por diferentes organismos internacionales (Lizarazo-Salcedo *et al.*) Sin embargo, aún no se cuenta con una definición carente de ambigüedad y dotada de todos los elementos necesarios, la cual logre correlacionar la definición con los comportamientos y propiedades que han sido identificados como diferenciales de los nanomateriales. En la Tabla 1 se evidencian algunas de las definiciones propuestas por estos entes internacionales.

Tabla 1. Definiciones de nanomaterial establecidas por entes internacionales.

Organización / País	Definición propuesta	Fuente
International Standardization Organization (ISO)	Material con cualquier dimensión externa en escala nano o que tiene una estructura interna o superficial en la escala nano.	ISO. Nanotechnologies - Terminology and definitions for nano-objects - Nanoparticle, nanofibre and nanoplate - ISO/TS 27687:2008. International Organization for Standardization. [Standard en Internet]. Agosto 2008 [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: https://www.iso.org/standard/44278.html
Comité Científico de la Unión Europea sobre Riesgos Sanitarios Emergentes y Recientemente Identificados (SCENIHR)	Cualquier forma de un material que se compone de partes funcionales diferenciadas, muchas de las cuales tienen una o más dimensiones del orden de 100 nm o menos	SCENIHR. Scientific Basis for the Definition of the Term «nanomaterial». European Commission, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. [Artículo de Internet]. Diciembre 2010 [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_032.pdf .



<p>Food and Drug Administration (FDA)</p>	<p>El término de nanomaterial se utiliza comúnmente en relación a la ingeniería (manipulación deliberada, fabricación o selección) de materiales que tienen al menos una dimensión en el intervalo de tamaño de 1 a 100 nm</p>	<p>FDA. Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology. Guidance for Industry, Food and Drug Administration. U.S. Department of Health and Human Services [Artículo en internet]. Junio de 2014 [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: https://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm257698.htm.</p>
<p>Australia: The National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS)</p>	<p>Los nanomateriales industriales son aquellos materiales producidos intencionalmente, fabricados o diseñados para tener propiedades específicas o composición específica, y una o más dimensiones típicamente entre 1 nm y 100 nm. Este rango de tamaño se refiere al tamaño de las partículas individuales y no tiene en cuenta la aglomeración de partículas</p>	<p>Nanomaterials and nanotechnology. Australian Government, Department of Health, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS). Disponible en: https://www.nicnas.gov.au/chemical-information/Topics-of-interest2/subjects/nanomaterials-nanotechnology</p>
<p>Canadá: Health Canadá</p>	<p>Cualquier producto manufacturado, material, sustancia, ingrediente, dispositivo, sistema o estructura es nanomaterial, si: a) Es en o dentro de la escala nanométrica en al menos una dimensión espacial; b) Es más pequeño o más grande que la nanoescala en todas las dimensiones espaciales y exhibe uno o más fenómenos a nanoescala</p>	<p>Health Canada. Policy Statement on Health Canada's Working Definition for Nanomaterial. Government of Canada. [Artículo de Internet]. Mayo 2011 [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: https://www.canada.ca/en/health-canada/services/science-research/reports-publications/nanomaterial/policystatement-health-canada-working-definition.html.</p>



Colombia: Guía Técnica Colombiana ISO/TC229/GTC1	Material con cualquier dimensión exterior en la nanoescala o que tiene una estructura interna o estructura de la superficie en la nanoescala». Este término genérico incluye nano-objetos y material nano estructurado. Se incluyen tres categorías principales, los de origen natural como productos de condensación, los inducidos por el hombre, y los artificiales o manufacturados.	
Reino Unido: The Royal Society & The Royal Academy of Engineering	Materiales estructurados con al menos una dimensión menor que 100 nm o que tienen una dimensión en la nanoescala (y se extienden en las otras dos dimensiones) o capas, como una fina película o recubrimiento superficial. Los materiales a nanoescala en dos dimensiones (y ampliado en una dimensión) incluyen nanocables y nanotubos. Los materiales a escala nanométrica en tres dimensiones son nanopartículas, al igual que los materiales nanocristalinos formados por granos de tamaño nanométrico.	

Los nanomateriales generalmente se clasifican en función de su dimensionalidad, morfología, composición, uniformidad y aglomeración. Basado en la dimensionalidad de las nanopartículas, Los nanomateriales se pueden clasificar en 0-D, 1-D, 2-D y 3-D.

Clasificación de los nanomateriales de acuerdo a sus dimensiones.

0-D

Tienen las tres dimensiones insignificamente pequeñas. También se conocen como átomos artificiales (o puntos cuánticos) porque sus niveles de energía son discretos.

1-D

Tienen dos dimensiones de partículas en la escala nanométrica y la tercera dimensión es significativa en comparación con las otras dos dimensiones, es decir, tienen una longitud de varios micrómetros (> 100 nm) y un diámetro de sólo unos pocos nanómetros.

2-D

Tienen una dimensión en la escala nanométrica y otras dos dimensiones son significativas. considerablemente grande en comparación con la tercera dimensión (es decir, espesor).

3-D

Todas las dimensiones de estos materiales están fuera del rango nanométrico. Son generalmente denominadas nanopartículas o nanocristales equiaxiales, Los nanomateriales 3-D también se conocen como nanomateriales a granel, que no se limitan a nanoescala en cualquier dimensión. Estos materiales tienen las tres dimensiones > 100 nm. Estos los materiales poseen una estructura nanocristalina.

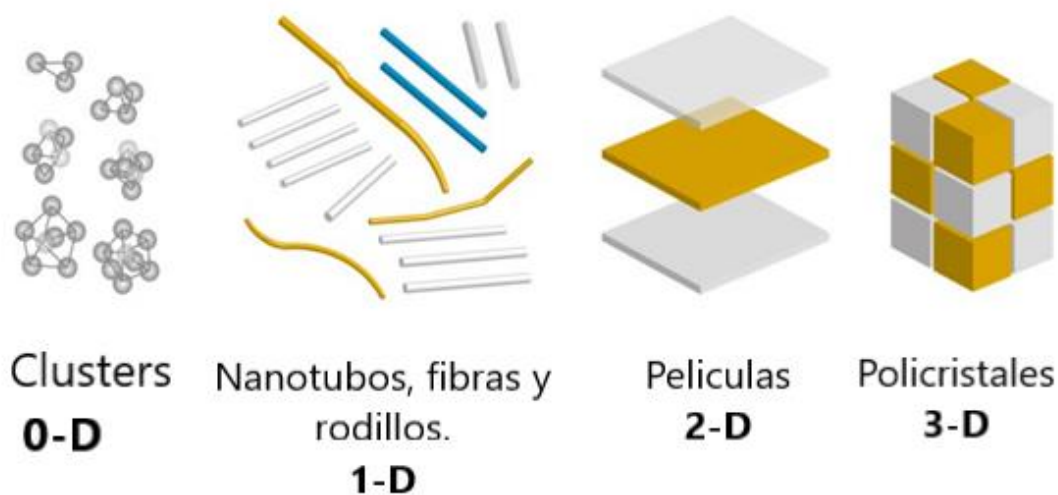


Figura 1. Clasificación de los nanomateriales basado en su dimensionalidad. Tomado de <https://nuevastecnologiasymateriales.com/clasificacion-de-los-nano-materiales/>

2.1.2. NANOMATERIALES DE INTERÉS PARA ESTA LINEA DE INVESTIGACIÓN.

2.1.2.1. Nanopartículas de oro (AuNPs por sus siglas en inglés).

Las nanopartículas se caracterizan por tener un tamaño muy pequeño, en el orden de 1 a 300 nm. Son utilizadas en diversos ámbitos como la industria, medicina, cosméticos, y otros productos comerciales, siendo liberadas potencialmente en diversas concentraciones al medio ambiente (Weiss & Diabaté, 2011).

Las nanopartículas de metales nobles y, más específicamente, las nanopartículas de oro (AuNPs), exhiben excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, intrínsecas a su tamaño nanométrico. Además, las AuNPs pueden ser producidas en distintos tamaños, formas y pueden ser fácilmente funcionalizadas con un amplio abanico de ligandos

(anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético, entre otros) ver figura 2. Todo esto hace que las AuNPs despierten un gran interés en multitud de campos, pero especialmente en los sectores biomédico y alimentario. Hoy en día, las AuNPs destacan especialmente por sus propiedades fototerapéuticas (Auffan *et al.*, 2009).



Figura 2.- Colores de nanopartículas de oro monodispersos de varios tamaños. Tomada de Kummar 2020.

Además de su extraordinario potencial como agentes fototerapéuticos, las AuNPs pueden utilizarse en la elaboración de partículas nanoestructuradas para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas, así como en terapia génica (vehiculización de plásmidos, DNA, RNA, etc.) (Connor, 2005). También destaca el empleo de las AuNPs en la elaboración de sistemas transportadores inteligentes que permiten controlar, en el espacio y en el tiempo, la liberación del compuesto terapéutico asociado, ya sea por activación de un estímulo biológico interno o externo. Sin embargo, existe cierta controversia en torno a los posibles efectos citotóxicos en líneas celulares alveolares humanas, en macrófagos y en fibroblastos de piel tras su exposición a las AuNPs (Lanone, *et al.*, 2009).

2.1.2.2. Nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT).

Esta forma 1-D de carbono fue observada accidentalmente en 1991 por S. Iijima bajo un microscopio electrónico de transmisión. Los nanotubos de carbono se pueden considerar como cilindros hechos de láminas de grafito, en su mayoría cerrados en los extremos, con átomos de carbono en los vértices de los hexágonos, como en una lámina de grafito ver figura 3 (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

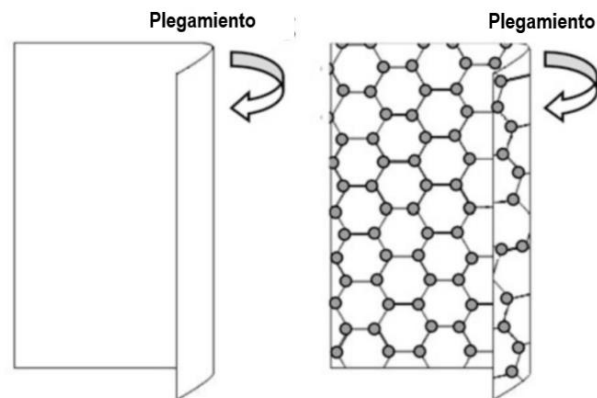


Figura 3. Enrollamiento de la lámina de carbonos para obtener un nanotubo de carbono. Tomada de (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

Es posible que muchos cilindros concéntricos puedan formarse como un nanotubo, dichos nanotubos concéntricos se denominan nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWCNT). La distancia entre sus paredes es de 0,334 nm. Esto es similar a lo que se obtiene entre dos capas de grafito en un solo cristal. Los MWCNT son los más comunes y fáciles de formar. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, es posible obtener incluso nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT). La figura 4 ilustra el concepto de SWCNT y MWCNT.

Son posibles tres tipos de nanotubos de carbono (consideraremos aquí solo el SWCNT en aras de la simplicidad), a saber. sillón, en zigzag y helicoidal, en condiciones adecuadas de crecimiento ver figura 4.

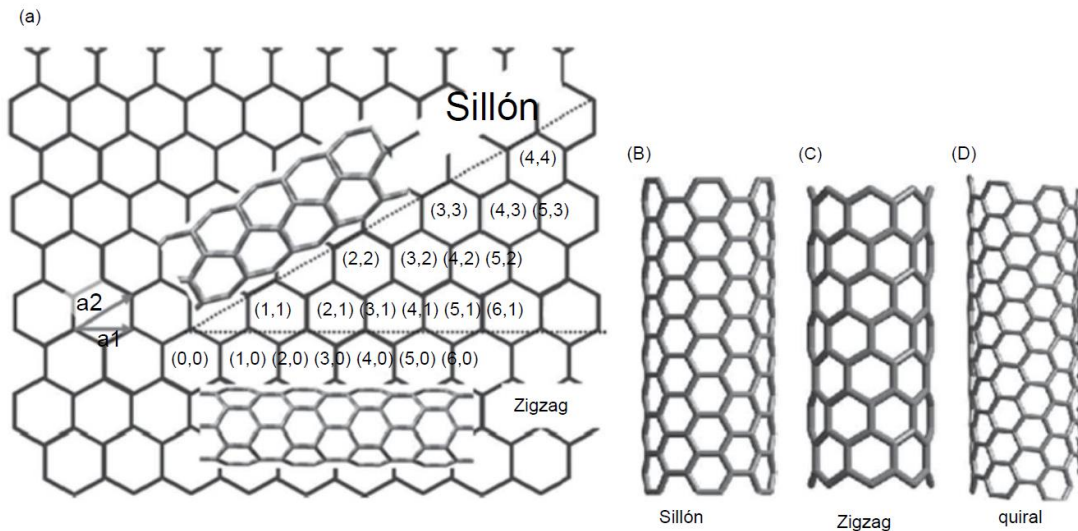


Figura 4. Se muestran los tres tipos de nanotubos de carbono tomada de Rajendra Kumar Goyal. 2018 (De Dervishi E. et al. 2009. Particul. ciencia Tecnología 27: 107–125. Reproducido con autorización de Taylor & Francis Group.

Los CNT poseen una conductividad eléctrica más alta que el cobre debido a su baja resistencia y muy pocos defectos. Los nanotubos de carbono (CNT) tienen propiedades mecánicas, eléctricas y químicas únicas debido a su nanoestructura de dimensión baja y su relación de aspecto extrema. Desde el descubrimiento de los CNT (Ijima, 1991), se han realizado amplias investigaciones sobre sus propiedades fundamentales de la estructura, el comportamiento eléctrico, óptico, mecánico y fisicoquímico, así como sobre la investigación y el desarrollo orientados a las aplicaciones. Un área particular donde ha visto un aumento de desarrollo reciente, es en su aplicación como un dispositivo biofísico o biomédico, por ejemplo, para el suministro de



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



medicamentos, terapia genética, biosensores e ingeniería de tejidos (Alshehri *et al.*, 2016).

2.1.2.3. Puntos cuánticos (C-Dots).

Los puntos cuánticos de carbono (C-Dots) se descubrieron por primera vez en 2004 durante la purificación de nanotubos de carbono de pared simple. Los C-Dots poseen propiedades de fluorescencia muy fuertes y ajustables que permiten sus aplicaciones en biomedicina, optrónica, sensores y aplicaciones catalíticas. Tiene excelente fotoestabilidad, tamaño pequeño, propiedad de fotoluminiscencia (PL) altamente ajustable, biocompatibilidad, electroquimioluminiscencia, propiedad excepcional de excitación multifotónica (conversión ascendente). Estos materiales se pueden funcionalizar con biomoléculas y son menos tóxicos y químicamente inertes, por lo que se utilizan como vehículos eficaces para la administración de fármacos y la obtención de imágenes biológicas. Los C-Dots también tienen aplicaciones prometedoras en sensores, optrónica y luminiscencia electroquímica (Shen *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2012).

En su forma de bulto son insolubles al agua, pero al disminuir su tamaño a escalas nanométricas incrementan su compatibilidad con el agua para formar suspensiones coloidales. Los C-Dots han logrado captar el interés de químicos, físicos, nanotecnólogos y biólogos para posicionarse como una alternativa de generación de nanomateriales (Solorio *et al.*, 2018).

Los C-Dots son cristales semiconductores tridimensionales en escalas de 1-10 nm que producen luminiscencia de color diferente debido a los efectos de confinamiento cuántico. La longitud de onda de la fluorescencia (color) depende del tamaño de la partícula. Los espectros de emisión de C-Dots



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



pueden estar en varias regiones; desde el UV cercano hasta el infrarrojo cercano, lo que se puede lograr cambiando el tamaño y composición de los núcleos de los C-Dots (Gao *et al.*, 2002; Klarreich 2001; Mittal and Kumar, 1999).

Al ser nanocristales formados por materiales semiconductores poseen una banda de valencia (llena de electrones) y una banda de conducción (banda de energética vacía) separada por una diferencia energética llamada gap (Cigales, 2016).

El proceso luminiscente se produce cuando los electrones de la banda de valencia son excitados con un haz de determinada energía a la banda de conducción dejando huecos en la banda de valencia. Cuando dicha excitación finaliza, se produce una combinación radiativa entre los electrones y los huecos generados lo que provoca la emisión de fotones con una energía definida que viene determinada por la separación entre ambos niveles energéticos y, por tanto, dicha radiación tiene una longitud de onda características. Se debe destacar que las nanopartículas de mayor tamaño tienen gaps más pequeños, aumentando al disminuir el tamaño de las nanopartículas. Este es el motivo, uno de los más interesantes en aplicaciones biomédicas, ya que, controlando el tamaño de las nanopartículas, se puede controlar la longitud de onda de emisión (Juárez, 2011).

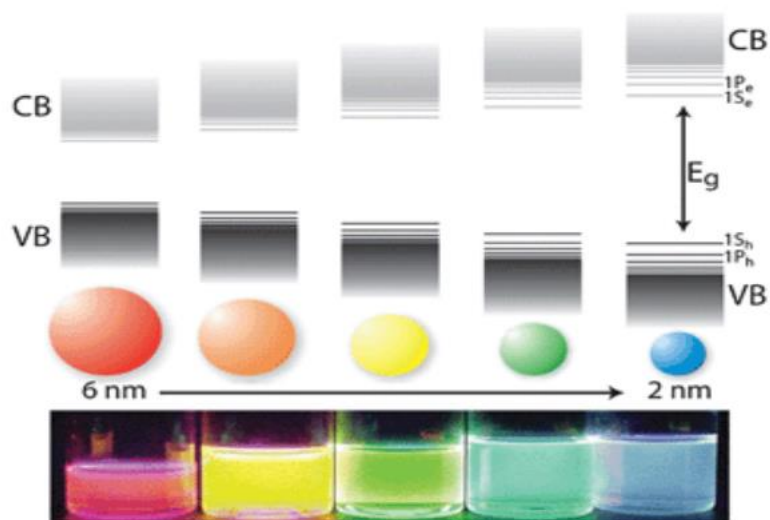


Figura 5. Fluorescencia de C-Dots de diferentes tamaños.

2.1.3. SÍNTESIS DE NANOMATERIALES.

Existen varios métodos para sintetizar nanomateriales, con ciertas características importantes para su uso, como la forma geométrica, tamaño, entre otras. Algunos métodos de síntesis se consideran convencionales, sin embargo, siguen en constante desarrollo de técnicas para optimizar el proceso.

Los métodos antes mencionados se pueden clasificar de acuerdo al ensamble del nanomaterial y/o a la técnica utilizada de obtención. Para el primer caso, de acuerdo al ensamble del nanomaterial se pueden agrupar en 2 grandes categorías o enfoques ver ilustración1:

- **"De arriba hacia abajo"**. Se refiere a la reducción del tamaño del material utilizando métodos mecánicos o químicos.

- **“De abajo hacia arriba”**. Se refiere a la construcción de una estructura átomo por átomo, molécula por molécula. En este tipo de enfoque se primero se forman las nanopartículas y posteriormente se ensamblan en el material final si es requerido.

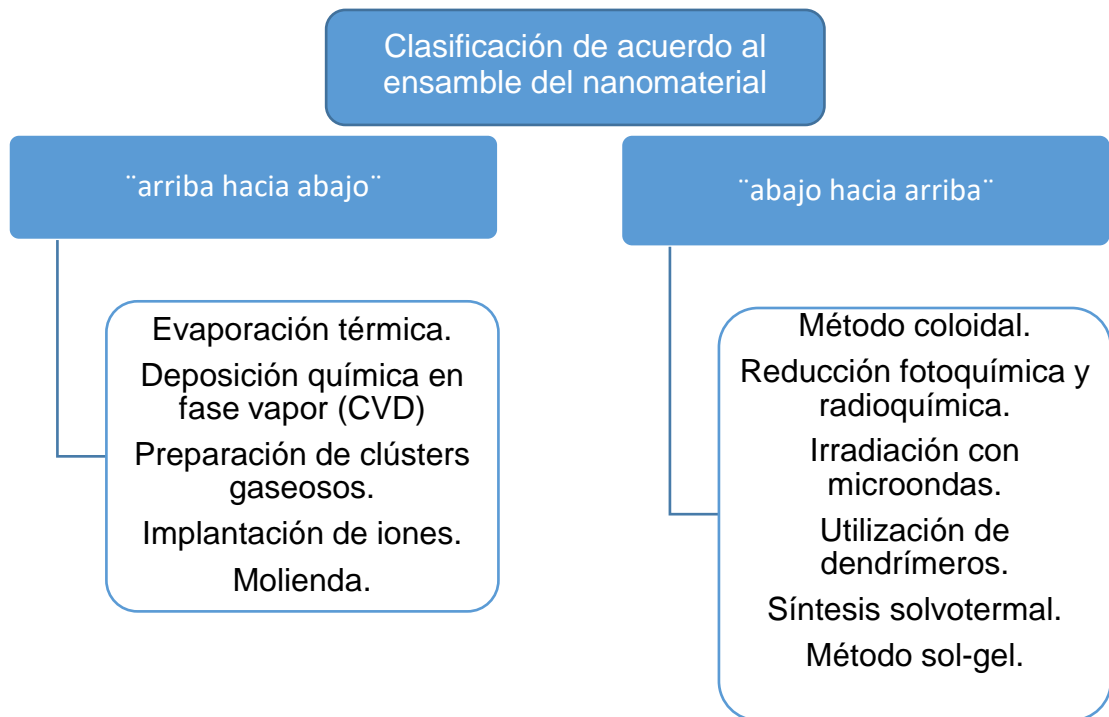


Ilustración 1. Muestra la clasificación de los métodos de síntesis de acuerdo al ensamble del nanomaterial.

Para la clasificación de métodos de síntesis de acuerdo a la técnica de obtención existen varias técnicas físicas, químicas, biológicas e híbridas disponibles para sintetizar nanomateriales. En la ilustración 2 se puede ver que, para cada tipo, hay un gran número de posibilidades. La lista no está completa, pero da algunas técnicas utilizadas. La técnica a utilizar depende del material de interés, tipo de nanomaterial cero dimensional (0-D), unidimensional (1-D) o bidimensional (2-D), sus tamaños y cantidad.

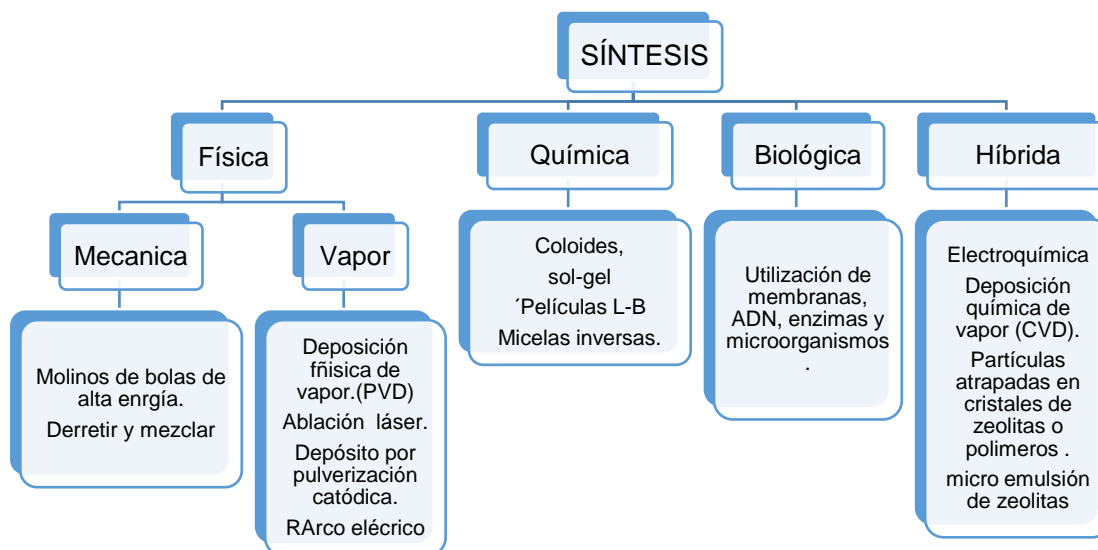


Ilustración 2. Muestra la clasificación de los métodos de síntesis de nanomateriales de acuerdo a las diferentes técnicas de obtención. Tomada de Nanotechnology: Principles and Practices. Sulabha K. Kulkarni p.56.

Al conocer la clasificación de los diferentes métodos de síntesis de nanomateriales podemos darnos cuenta de que hay infinidad de técnicas, en este trabajo, se describen las técnicas utilizadas en esta investigación.

2.1.3.1. Método coloidal.

Los coloides se conocen desde hace mucho tiempo. Una clase de materiales, en la que dos o más fases (sólido, líquido o gas) del mismo o diferentes materiales coexisten con las dimensiones de al menos una de las fases de menos de un micrómetro se conoce como coloides. Los nanomateriales son una subclase de coloides, en la que una de las



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



dimensiones de los coloides está en el rango de nanómetros (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

La síntesis de coloides es un método muy antiguo. La fabricación de nanopartículas por vía coloidal se remonta al siglo XIX cuando M. Faraday sintetizó nanopartículas de oro por vía química húmeda (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

Las nanopartículas de metales coloidales a menudo se sintetizan mediante la reducción de algunos metales: sal o ácido (Sulabha K. Kulkarni, 2015). Los precursores más comunes que incluyen elementos metales, sales inorgánicas y complejos metálicos son Ni, Co, HAuCl_4 , H_2PtCl_6 , RhCl_3 y PdCl_2 . Los reactivos reductores comúnmente utilizados son citrato de sodio, peróxido de hidrógeno, hidroxilo clorhidrato de ilamina, ácido cítrico, monóxido de carbono, fósforo, hidrógeno, formaldehído hyde, metanol acuoso, carbonato de sodio e hidróxido de sodio (Rajendra Kumar Goyal, 2018). Por ejemplo, se pueden obtener partículas de oro altamente estables reduciendo ácido cloroáurico (HAuCl_4) con citrato trisódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$). La reacción toma nucleación homogénea. Esto se puede entender de la siguiente manera, lugar de la siguiente manera (Fig. 6): Las nanopartículas de oro metálico exhiben rojo intenso, magenta y otros colores, según el tamaño de la partícula. El tamaño de las partículas, la distribución del tamaño y la forma dependen en gran medida de los parámetros de reacción y se pueden controlar para resultados También es posible sintetizar nanopartículas de aleación usando precursores apropiados (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

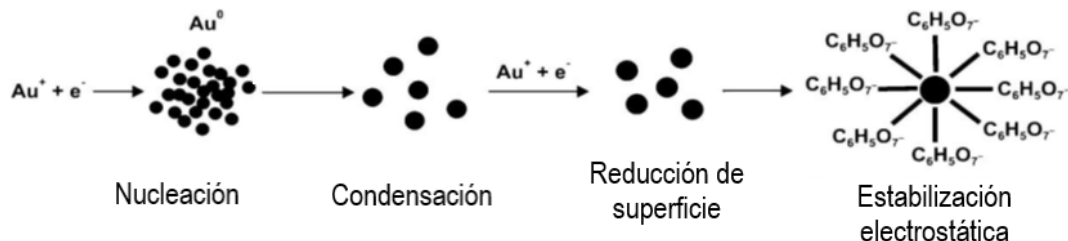


Figura 6. Estabilización por formación de doble capa electroquímica Tomada de *Nanotechnology: Principles and Practices*. Sulabha K. Kulkarni p.92.

Las reacciones químicas en las que se obtienen partículas coloidales se llevan a cabo en algún reactor de vidrio de tamaño adecuado. El reactor de vidrio generalmente tiene una disposición para introducir algunos precursores, gases y medir la temperatura y el pH durante la reacción. La figura 7 ilustra una síntesis química simple configurada para obtener nanopartículas por ruta coloidal.

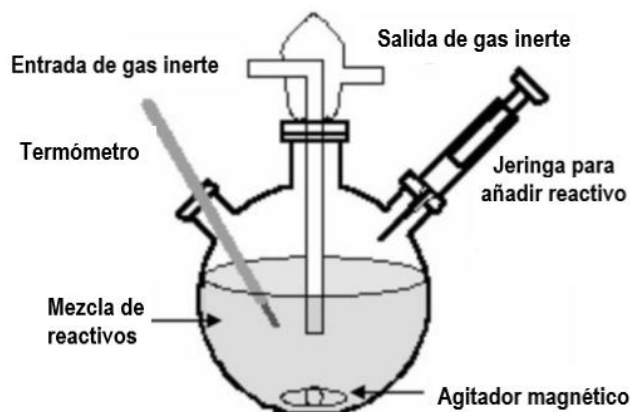


Figura 7. Un reactor químico típico para sintetizar nanopartículas Tomada de *Nanotechnology: Principles and Practices*. Sulabha K. Kulkarni p.88.

A principios de los años 50 del siglo pasado, Turkevich reportó el primer método estándar y reproducible para la preparación de coloides metálicos



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



(partículas de oro de 20 nm por medio de la reducción de ácido cloroáurico (HAuCl_4) con citrato trisódico ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$). Adicionalmente fue el primero en proponer un mecanismo paso a paso de la formación de nanoclúster basado en la nucleación y crecimiento (Turkevich *et al.*, 1951; Turkevich y Kim, 1970).

2.1.3.2. Anodización electroquímica.

Masuda y Fukuda fueron pioneros en la obtención de recubrimientos porosos con morfología nanotubular. En 1995 demostraron que bajo ciertas condiciones de anodizado (electrolito, voltaje y tiempo) eran capaces de obtener estructuras hexagonales a escala nanométrica en un sustrato de aluminio. En 1999, Zwillling *et al.* observaron por primera vez que era posible obtener estructuras nanotubulares en un sustrato de titanio, empleando un electrolito compuesto por HF y ácido crómico.

El mecanismo básico para la formación de los nanotubos está compuesto por dos procesos, el primero es el ataque químico y el segundo es la disolución química. El mecanismo comienza con la formación de una capa inicial de óxido en la superficie de la aleación de titanio, debida a la interacción de Ti^{4+} , Nb^{5+} , Ta^{5+} y Zr^{4+} y los iones O^{2-} . Sigue con la aparición del fenómeno de corrosión por picadura; éste se produce por la disolución localizada de los iones F^- . Las picaduras en la superficie del implante se convierten en poros de mayor tamaño, este crecimiento ocurre por el desplazamiento de la capa de óxido hacia el interior (Fig. 8). El avance de esta oxidación selectiva, que separa unas picaduras de otras, permite la formación de los nanotubos (Minagar *et al.*, 2012).

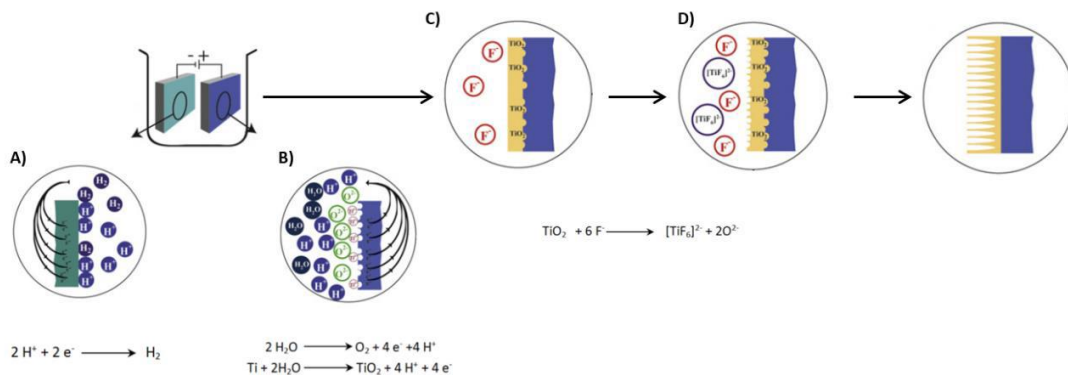


Figura 8. Formación regular de nanotubos de TiO_2 . A) Reacción catódica. B) Reacción anódica. C) Estado de transición de la capa de TiO_2 . D) Formación de los nanotubos. (e) Nanotubos de TiO_2 . Fuente: Minagar et al., 2012 "A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces".

2.1.3.3. Deposición Química de Vapor (CVD por sus siglas en inglés).

La deposición química de vapor, un método híbrido que usa productos químicos en fase de vapor, se usa convencionalmente para obtener recubrimientos de una variedad de materiales inorgánicos u orgánicos. Es ampliamente utilizado en la industria debido a la instrumentación relativamente simple, la facilidad de procesamiento, la posibilidad de depositar diferentes tipos de materiales y la viabilidad económica (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

La CVD se realiza en una cámara de reacción (o reactor). En el reactor, se da una presión típica de los productos químicos es $\sim 10^4$ Pa y el calentamiento se logra mediante energía eléctrica. El sustrato generalmente se mantiene a temperaturas típicas de $300\text{--}1200^\circ\text{C}$ (Rajendra Kumar Goyal, 2018).

El proceso CVD básico puede considerarse como un transporte de vapor reactivo o gas reactivo hacia el sustrato (ver fig. 9) mantenido a una temperatura alta donde el reactivo se rompe en diferentes productos que se difunden en la superficie, experimentan alguna reacción química in situ apropiado, nuclearse y crecer para formar la película de material deseada. Los

subproductos creados en el sustrato deben transportarse de regreso a la fase gaseosa y eliminarlos del sustrato (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

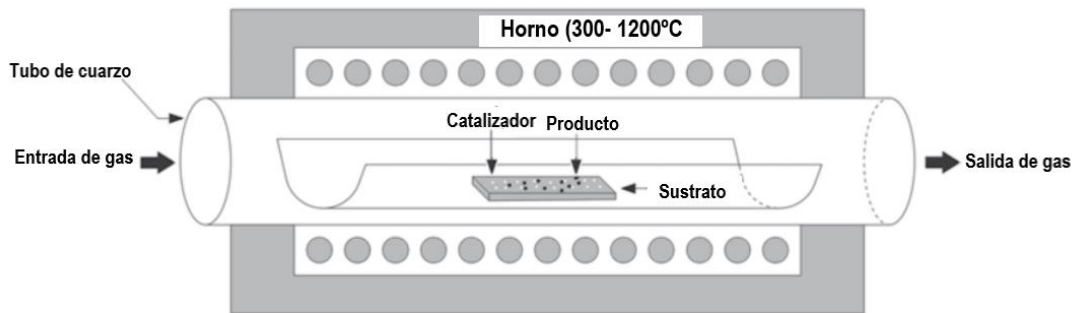


Figura 9.- Configuración básica del proceso de CVD tomada de (Rajendra Kumar Goyal. 2018). p.91

Variando la temperatura y la sobresaturación de los precursores se puede depositar materiales en diversas formas: materiales monocristalinos, policristalinos, amorfos, y epitaxiales (Qin, L.C., 1997). Estos materiales incluyen: silicio, fibra de carbono, nanofibras de carbono, filamentos, nanotubos de carbono, SiO₂, silicio - germanio, tungsteno, carburo de silicio, nitruro de silicio, óxinitruro de silicio, nitruro de titanio, diamantes sintéticos, etc (Investigación, 2009).

2.1.3.4. Hidrotermal.

Es una técnica muy antigua, probablemente utilizada por primera vez por el científico alemán Robert Bunsen en 1839. Este método de síntesis es útil para hacer una producción a gran escala de partículas de tamaño nano a micro. En esta técnica, los precursores químicos adecuados se disuelven en agua y se colocan en un recipiente de acero o cualquier otro metal adecuado que pueda soportar altas temperaturas, normalmente de hasta 300°C, y altas presiones superiores a 100 bares. El recipiente, conocido como *autoclave*,



suele estar provisto de control de temperatura y presión, así como medidores de medición, como se ilustra en la figura 10 (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

Se ha vuelto popular entre los nanotecnólogos debido a las ventajas, como el gran rendimiento y las formas y tamaños novedosos que se pueden obtener con esta técnica.

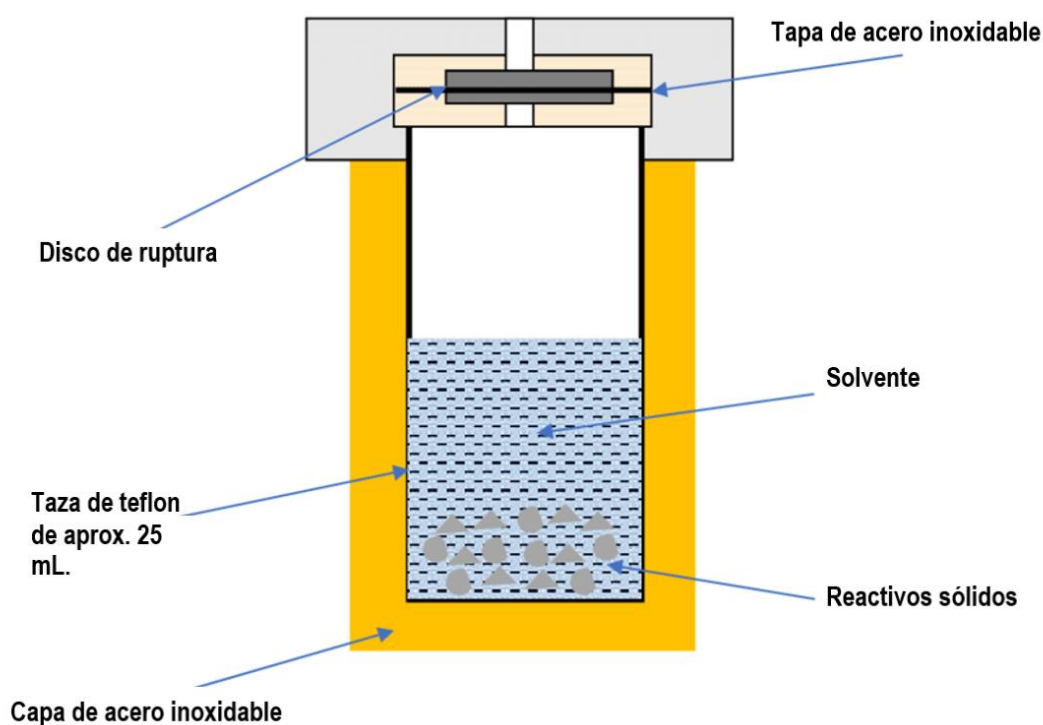


Figura 10.- Esquema de una autoclave para la síntesis hidrotermal tomada de https://www.researchgate.net/figure/A-schematic-diagram-of-solvothermal-synthesis-setup_fig4_337944364

2.1.4 CARACTERIZACIÓN DE NANOMATERIALES.

La caracterización de materiales es muy importante, ya que, al conocer las características del material se puede inferir el comportamiento de los mismos en un determinado escenario. Algunas veces, se conocen las



características que se requieren cumpla el material para su aplicación. Por lo tanto, dependiendo de las características buscadas se elige el tipo de técnica a utilizar para conocerlas. Los datos de mayor interés son: el tamaño, la composición química, los grupos funcionales, propiedades ópticas y su morfología.

Existen varias técnicas de caracterización de materiales las cuales se enumeran enseguida:

- **Técnicas de microscopia.** Microscopio (SEM), Microscopio electrónico de transmisión (TEM), Microscopio de efecto túnel (STM), Microscopio de fuerza atómica (AFM), Microscopio óptico de campo cercano (SNOM).

Los microscopios son útiles para investigar la morfología, el tamaño, la estructura e incluso la composición de los sólidos según el tipo de microscopio. Algunos de los potentes microscopios pueden resolver estructuras hasta una resolución atómica.

- **Espectroscopias.** Absorción UV-Vis-IR (modos de transmisión y reflexión), Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia de absorción atómica (AAS), Resonancia de espín electrónico (o paramagnética) (ESR o EPR), Resonancia magnética nuclear (NMR), Raman Espectroscopia, varias espectroscopias de luminiscencia, espectroscopia de electrones para análisis químico (ESCA) o espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS), espectroscopia de electrones Auger (AES).

- **Técnicas de difracción.** Difracción de rayos X (XRD), difracción de electrones, difracción de neutrones, dispersión de rayos X de ángulo pequeño (SAXS), dispersión de neutrones de ángulo pequeño (SANS) y dispersión de luz dinámica (DLS).

Las técnicas de dispersión o difracción se utilizan a menudo en forma de partículas y análisis de tamaño de partícula promedio, así como determinación estructural.

Las espectroscopias son útiles para el análisis del estado químico (enlace o transferencia de carga entre los átomos), la estructura electrónica (brechas de energía, niveles de impurezas, formación de bandas y probabilidades de transición) y otras propiedades de los materiales (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

2.1.4.1 Microscopio electrónico de barrido.

La microscopía electrónica se convirtió en una de las técnicas más importantes para caracterizar la morfología del material desde el nanómetro hasta la escala atómica. Hay dos tipos principales de microscopios electrónicos: SEM y TEM. Cuando un haz de electrones primario de alta energía entra en una muestra, los electrones experimentan dispersión elástica e inelástica junto con el haz transmitido (en el caso de una lámina fina). Las interacciones de los electrones primarios con los átomos de una muestra generan varias señales, como electrones secundarios (SE), electrones retrodispersados (BSE), electrones Auger, rayos X Bremsstrahlung (continuos), rayos X característicos, etcétera, ver figura 9 (Rajendra Kumar Goyal, 2018).

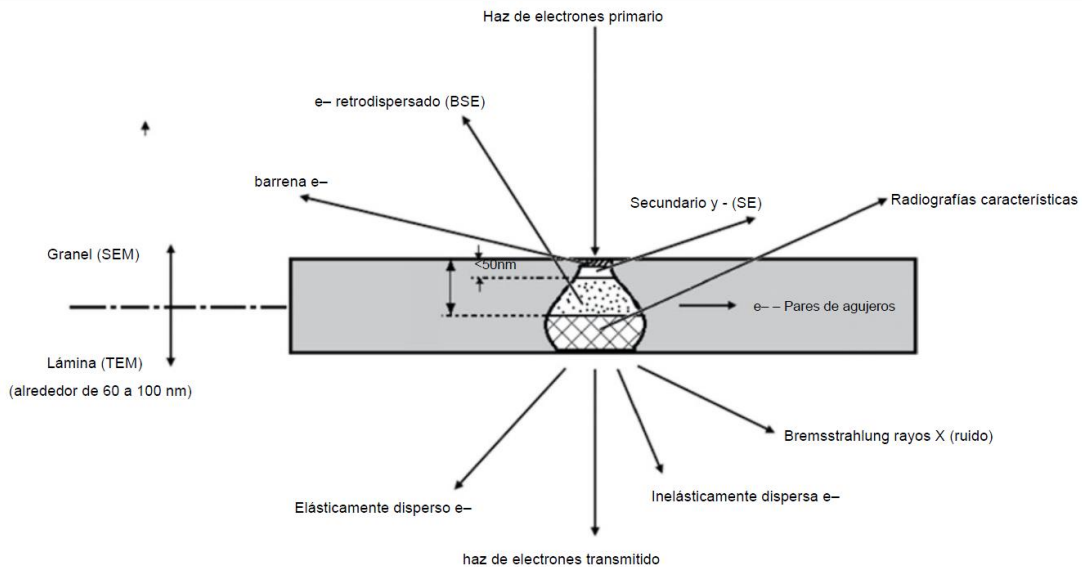


Figura 11 Diagrama esquemático típico que muestra la zona de interacción entre el haz de electrones primario y la superficie de la muestra tomada de Rajendra Kumar Goyal. 2018.

En un microscopio electrónico, normalmente se utilizan electrones emitidos por un filamento caliente. En un microscopio electrónico de barrido se detectan electrones retrodispersados o electrones secundarios (en algunos casos también es posible utilizar corriente de muestra). El haz fino es escaneado o rasterizado en la superficie de la muestra usando un generador de escaneo y los electrones retrodispersados son recolectados por un detector apropiado. La señal del generador de escaneo junto con la señal la imagen de la superficie de la muestra. Por lo general, se necesita un vacío de 10.2–10.3 Pa para el mejor funcionamiento del microscopio (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

2.1.4.2. Espectroscopia UV-vis.

La espectroscopia UV-vis se usa ampliamente para caracterizar cuantitativamente los nanomateriales. Se basa en la medición de la absorción

de luz debido a transiciones electrónicas en una muestra. La longitud de onda (λ) de la luz requerida para las transiciones electrónicas se encuentra típicamente en la región ultravioleta ($\lambda = 200\text{--}390\text{ nm}$) y visible ($\lambda = 390\text{--}780\text{ nm}$) del espectro de radiación electromagnética. Por lo tanto, la espectroscopia de absorción electrónica a menudo se denomina espectroscopia UV-vis. El espectro UV-vis de los nanomateriales es generalmente diferente al de sus contrapartes a granel (Rajendra Kumar Goyal, 2018).

Una expresión común y práctica de la ley de Beer-Lambert relaciona la atenuación óptica de un material físico que contiene una sola especie atenuante de concentración uniforme con la longitud del camino óptico a través de la muestra y la capacidad de absorción de la especie. Esta expresión es: $A = \epsilon l c$; donde, ϵ es el coeficiente de atenuación molar o la capacidad de absorción de las especies atenuantes, l es la longitud del camino óptico, y c es la concentración de las especies atenuante. Se muestra el espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 950 de doble haz ver figura 12 (Reddy Bogireddy, 2020).

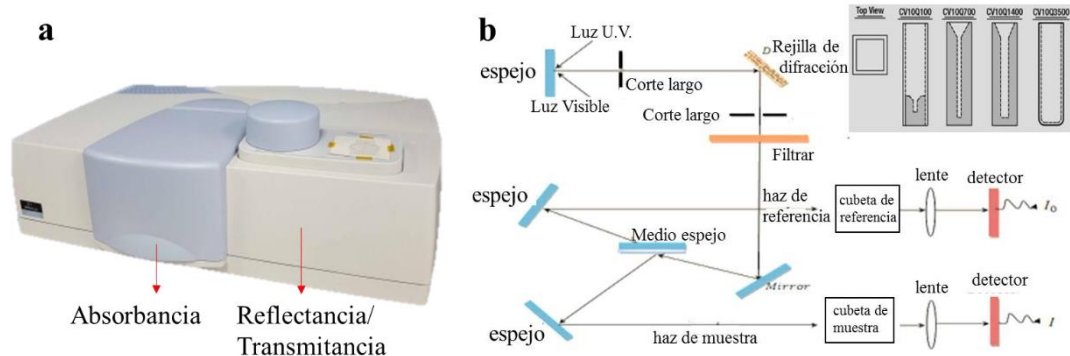


Figura 12. Muestra imágenes fotográficas digital de la configuración del instrumento de Espectroscopia de absorción UV-Visible, (b) componentes principales en línea de luz, y el recuadro muestra los diferentes volúmenes de cuarzo cubetas para mediciones de absorción (Reddy Bogireddy, 2020).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



2.1.4.3 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier.

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una de las herramientas más utilizadas para la detección de grupos funcionales en compuestos puros y mezclas. La espectroscopia infrarroja está asociada con la energía vibratoria de los átomos o grupos de átomos en un material. La posibilidad de que dos compuestos tengan el mismo espectro infrarrojo es extremadamente pequeña el espectro FTIR se denomina huella dactilar de una molécula (Rajendra Kumar Goyal, 2018).

La espectroscopia FTIR se utiliza principalmente para identificar los elementos y la fase de los elementos. Es una herramienta eficaz para detectar la forma de materiales de tamaño nanométrico. A medida que aumenta el tamaño de partícula, disminuye el ancho del pico y aumenta la intensidad. La disminución en el ancho de los picos de los espectros indica un cambio en la transformación de fase y un aumento en la cristalinidad. También se utiliza para estudiar la naturaleza de los adsorbentes superficiales en nanopartículas (Rajendra Kumar Goyal, 2018).

Se muestra el espectrofotómetro de infrarrojos por transformada de Fourier Varían 660 (FT-IR) con accesorio ATR, ver figura 13.

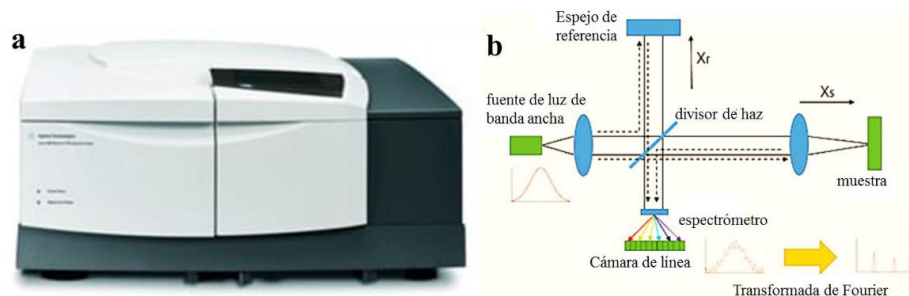


Figura 13.- Imágenes fotográficas digital de la configuración del instrumento de espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier, y (b) componentes principales del camino óptico (Reddy Bogireddy, 2020).

2.1.4.4. Dispersión de luz dinámica.

Es una técnica capaz de determinar el tamaño 'hidrodinámico' de las partículas. El tamaño hidrodinámico se puede definir para una partícula de forma irregular como el tamaño efectivo de una partícula cuando se dispersa en un líquido. La técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) también se conoce con varios nombres, como espectroscopia de correlación de fotones (PCS), dispersión cuasi elástica, dispersión de luz difusiva, dispersión de luz dinámica 3-D, espectroscopia de batido, espectroscopia homodina y espectroscopia de fluctuación de intensidad. Sin embargo, DLS y PCS son los nombres de uso más común.

La técnica DLS es capaz de determinar el tamaño de las partículas o la distribución de tamaños solo cuando las partículas están dispersas en algún líquido. La técnica depende de las fluctuaciones de intensidad de la luz visible dispersada por las partículas mientras realizan un movimiento browniano aleatorio en el líquido (Sulabha K. Kulkarni, 2015).

Es una técnica relativamente simple basada en la dispersión elástica de Rayleigh a partir de partículas de tamaño nanométrico y/o submicrónico dispersas en un líquido adecuado. Mide la velocidad a la que se mueven las partículas bajo el movimiento browniano al monitorear la intensidad de la luz dispersada por la muestra en un ángulo fijo. El movimiento browniano provoca interferencias constructivas y destructivas de la luz dispersada. Utiliza el método de autocorrelación para descubrir información contenida en las fluctuaciones de la intensidad de la luz (Rajendra Kumar Goyal, 2018).

Si la intensidad de la luz dispersada se registra en función del tiempo desde varias direcciones, el método se denomina método DLS. DLS mide el movimiento browniano y correlaciona esa información con el tamaño de las partículas, el tamaño de partícula de esfera equivalente se calcula a partir de la ecuación de Stokes-Einstein:

$$dH = \frac{kT}{2\pi\eta D}$$

Donde, $d(H)$ = diámetro hidrodinámico, D = coeficiente de difusión traslacional, k = constante de Boltzmann, T = temperatura absoluta y η = viscosidad.

La D depende del tamaño y estructura superficial de la partícula, y de la concentración y tipo de iones en el medio. La D se obtiene de la función de correlación utilizando varios algoritmos (Rajendra Kumar Goyal, 2018).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



2.2 ENVEJECIMIENTO ACELERADO DE SEMILLAS DE MAÍZ (*ZEA MAYS*).

2.2.1 El maíz y sus generalidades.

El maíz es una especie monocotiledónea que pertenece a la familia *Poaceae*, de gran valor comercial y cultural en Mesoamérica. Recientemente, el maíz se ha establecido como un organismo modelo en la investigación básica para generar información sobre la biología de los cereales (Demostrables y Scanlon 2009). El ciclo de vida del maíz puede dividirse en dos grandes etapas: i) un estadio vegetativo y ii) la fase reproductiva. La primera, comprende desde la germinación hasta la emergencia de las inflorescencias masculinas (panoja), mientras que la etapa reproductiva involucra el desarrollo de las inflorescencias femeninas (espigas). Posteriormente la polinización de las espigas da lugar a la formación de los granos de la mazorca (Monasterio *et al.*, 2007).

La raíz del maíz al igual que en otras plantas, participa en la captación de agua y nutrientes del suelo, además provee soporte estructural y es el sitio de interacción con factores bióticos y abióticos que con frecuencia determinan la productividad del cultivo (Liedgens *et al.* 2000; Hochholdinger *et al.*, 2004a; López-Bucio *et al.*, 2003). El desarrollo del sistema radicular del maíz puede ser embrionario y post-embrionario. El primero ocurre por una serie de divisiones asimétricas en las células del cigoto dando lugar a la formación del suspensor y al embrión. Después de las divisiones antes indicadas aparece el eje embrionario formado por el meristemo apical-foliar y radicular en el coleoptilo. Finalmente, se desarrollan estructuras embrionarias tales como el primer primordio de la hoja, la raíz primaria (RP) y las raíces escutelares

seminales (RES) ver figura 14 (Chandler *et al.*, 2008; Nardmann y Werr, 2009; Sheridan y Clark, 1994).

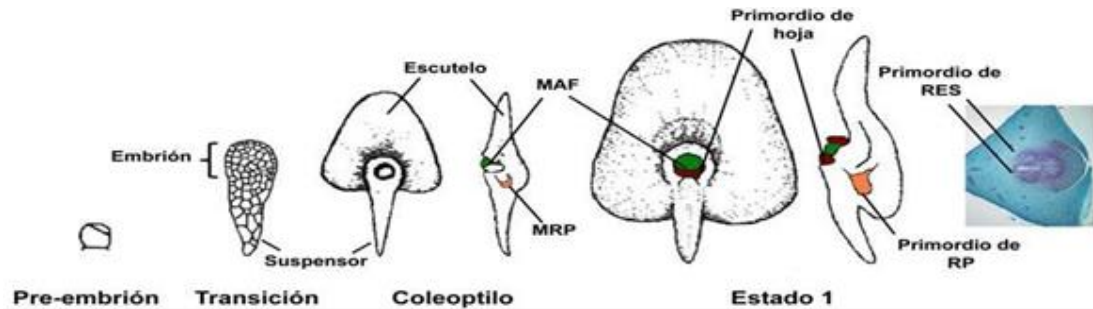


Figura 14. Representación esquemática del desarrollo embrionario de la raíz primaria y de las raíces escutelares seminales en maíz. Formación de los diferentes tejidos y órganos a partir de las divisiones asimétricas del cigoto en el estado embrionario.

La raíz del maíz muestra una estructura radicular compleja comparada con el sistema radicular más simple de *Arabidopsis thaliana* figura 15. En el primer caso, las raíces se forman endógenamente en el embrión y consisten de la raíz primaria y de las raíces escutelares que aparecen durante la germinación. Las raíces escutelares seminales son una parte importante para la captación inicial de agua, nutrientes y para el establecimiento de la plántula en el suelo. Las raíces post-embriónicas se forman después de la germinación y continúan creciendo hasta formar un sistema radicular altamente ramificado en las plantas adultas. El sistema radicular post-embriónico está formado por raíces de corona o nodales (RC) y de raíces aéreas (RA) que surgen tardíamente en los nodos del tallo figura 16. (Singh *et al.*, 2010; Hochholdinger y Feix, 1998).

Las raíces laterales (RL) emergen de los diferentes tipos de raíces (Hochholdinger *et al.*, 2004b). Las raíces escutelares y las raíces de corona

forman la estructura de anclaje de la raíz, mientras que las raíces laterales aumentan el área de absorción en el suelo (Grzesiak, 2009).

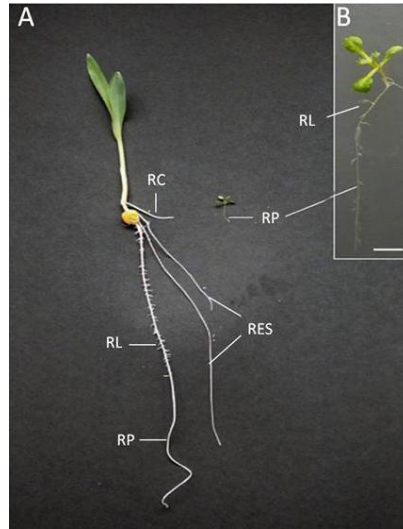


Figura 15. Fotografía comparativa de la plántula de maíz (*Zea mays*) (A) y *Arabidopsis thaliana* (B) de 14 días de edad. Las fotografías muestran la complejidad de la arquitectura de la raíz de la plántula de maíz comparada con *A. thaliana*. RP: Raíz primaria; RES: Raíz escutelar seminal; RC: Raíz de corona; RL: Raíz lateral. Fotografía adaptada de Hochholdinger y Zimmermann (2008).

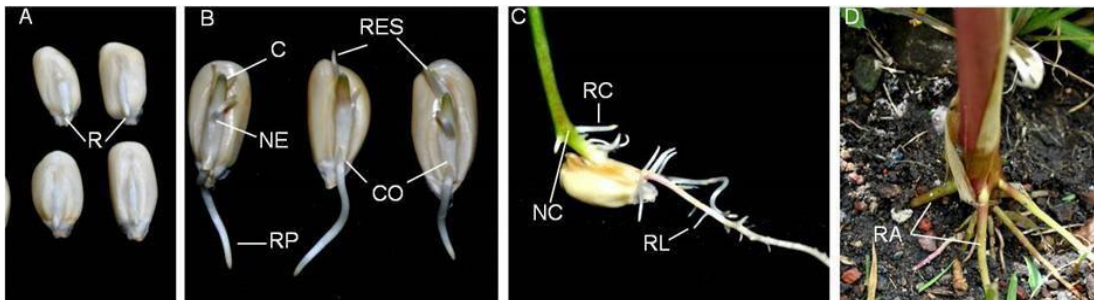


Figura 16. Desarrollo del sistema radicular del maíz. Notar la emergencia de los diferentes tipos de raíces. (A) Germinación de semillas por 48 hrs, se puede apreciar la salida de la radícula (R). (B) A los tres días de edad se puede observar la emergencia de la raíz primaria (RP) a través de la coleorriza (CO) y de las raíces escutelares seminales (RES) que se desarrollan a partir del nodo escutelar (NE). (C) A los ocho días de edad se observa la formación de las raíces de corona o nodales (RC) en el nodo del coleoptilo (NC) y de raíces laterales sobre la RP. (D) A las seis semanas de edad se aprecia la formación de las raíces aéreas (RA) en los nodos del tallo.

2.2.2 Estructura de la semilla.

El maíz goza de gran importancia económica mundial ya sea como alimento humano, para el ganado o como materia prima de un gran número de productos industriales. El fruto es indehisciente, cada grano se denomina cariósipide, no presentando latencia la semilla. El pericarpio está fundido con la testa de la semilla formando la pared del fruto. El fruto maduro consta de pared, embrión diploide y endosperma triploide. El pericarpio constituye alrededor del 5 a 6 % de peso total del grano, la aleurona en torno al 2 o 3 %, el embrión alrededor del 12-13%, y el endospermo, mayoritario, presenta unos valores en torno al 80-85%. El resto lo constituye la piloriza que es una pequeña estructura cónica encargada junto con el pedicelo de unir el grano a la espiga (Paliwal, 2001b; FAO, 1993) ver figura 17.

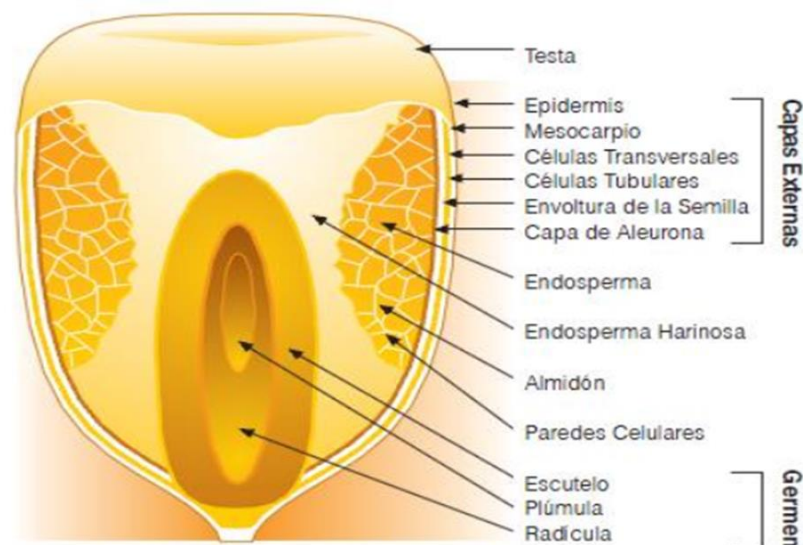


Figura 17. Corte transversal del grano de maíz (*Zea mays*). Tomada de http://www.gopixpic.com/655/estructuradelgranodemaiz/http://www*fao*org/docrep/t0395s/T0395S00*GIF/

El embrión llamado también germen, representa entre 8 a 12 % del peso total del grano, el embrión es la única parte viviente del grano del maíz. En el

germen esta la información genética imprescindible, enzimas vitaminas y minerales esenciales para el crecimiento del maíz que habría de transformarse en planta (manual del ciclo del maíz, Andes.center 2019/10). El embrión compuesto por un eje embrionario, integrado por epicótilo, mesocotilo, hipocótilo, y el escutelo, que ocupa el 11% de la masa total de la semilla y el 90% del embrión. El escutelo está cubierto por un grupo de células que forman el epitelio, el cual produce durante la germinación un gran número de proteínas hidrolíticas, un parénquima, compuesto por células con un denso citoplasma, en el cual gránulos de fitato almacenan minerales, P, K, Mg, S, Fe, Zn, Ca, una epidermis y tejido pro-vascular. El escutelo parece controlar la productividad y vigor requerido durante la germinación y la estabilidad genética ver figura 18 (Quero., et al., 2018).

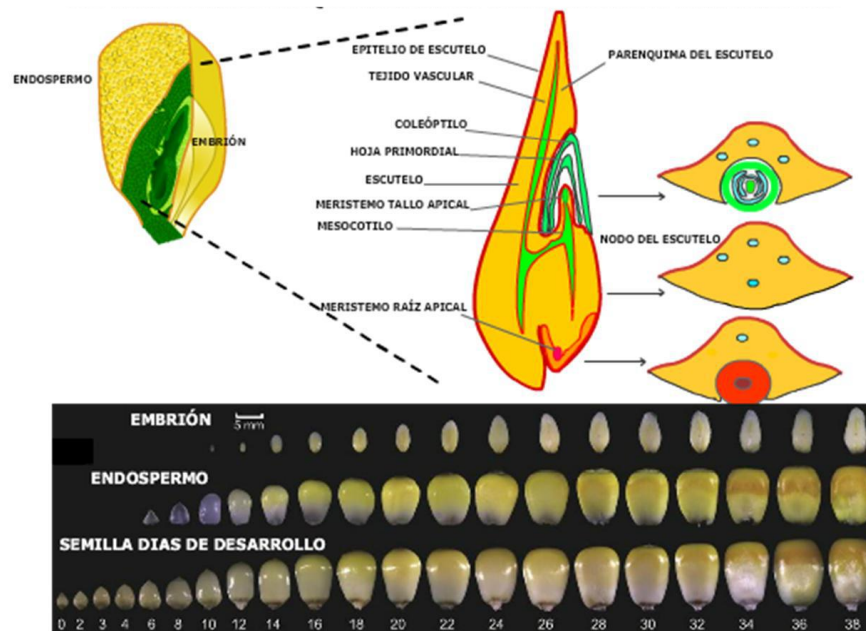


Figura 18. Muestra una representación esquemática de un embrión de maíz (*Zea mays*) maduro. Tomada de Quero E. 2018.

Resumiendo, la semilla constituye el órgano de dispersión y perpetuación de las angiospermas y representa la culminación de la evolución reproductiva de las plantas (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

La semilla se forma mediante una embriogénesis cigótica que comprende los cambios morfológicos, estructurales y de expresión génica que tienen lugar desde la formación del cigoto hasta el final del desarrollo y la maduración del embrión. Éste podrá germinar cuando las condiciones endógenas y medioambientales sean las apropiadas (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

2.2.3 Proceso de germinación.

La germinación es el proceso que se inicia con la toma de agua por la semilla seca (imbibición) y termina cuando una parte de ésta (eje embrionario en dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas y gimnospermas) atraviesa las estructuras envolventes que la rodean (emergencia) ver figura 19. Las semillas endospermicas (como las de las gramíneas), la resistencia que oponen estas estructuras (testa y endospermo) al embrión es tan grande que para que se produzca la emergencia es necesaria la degradación enzimática de varias zonas de dichas estructuras (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

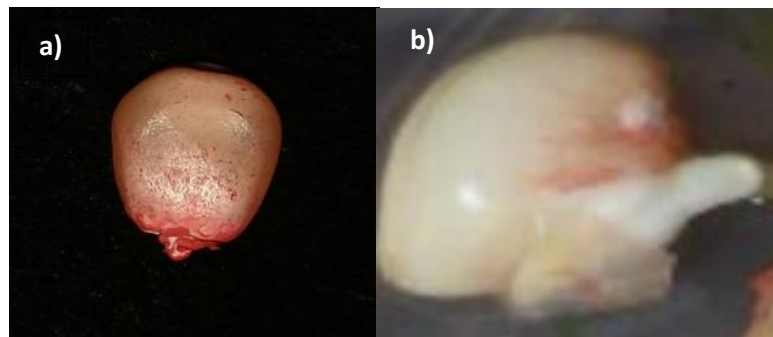


Figura 19. Muestra semilla de maíz *Zea mays* híbrido "Albatros" a) sin germinar; b) germinada.

La toma de agua por una semilla madura es trifásica: toma rápida inicial, fase de meseta (ψ entre 1 a 1.5 MPa) y nuevo incremento en la absorción de agua, que se corresponde con el período de elongación del embrión o de la radícula. La duración de cada fase dependerá de las características de la semilla (tamaño, contenido de sustratos hidratables, permeabilidad de la cubierta seminal, toma de O_2 , etc.) y de las condiciones externas en las que se produce la imbibición: temperatura, composición del sustrato del suelo, contenido de humedad (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

Una semilla seca (5-10% de contenido en agua) tiene un ψ muy negativo (aproximadamente, 100 MPa), por lo que tiende a imbibirse muy deprisa (fase inicial), independientemente de que la semilla esté durmiente o sea viable. una pérdida al medio circundante de solutos y diferentes metabolitos de bajo peso molecular (azúcares, ácidos orgánicos, iones, aminoácidos, péptidos, etc.). La pérdida de los inhibidores de la germinación (p. ej., los fenoles) y el ABA también tiene lugar en esta fase de hidratación (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

Concluida la fase inicial de imbibición, las membranas recobran su configuración más estable y se reduce la pérdida de solutos; sin embargo, no se conoce el mecanismo por el cual las membranas son reparadas una vez finalizada esta toma de agua tan brusca (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

Al momento de iniciar la fase de imbibición, se reanuda la actividad metabólica el aspecto más importante del metabolismo al inicio de la imbibición es la producción de ATP y la actividad respiratoria, a los pocos minutos de comenzar la imbibición, empieza la desaparición de los ribosomas libres, porque éstos se integran en el complejo ternario de iniciación de la síntesis



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



proteica. Ello significa que la proteínosíntesis inicial se efectúa sobre los ribosomas «almacenados» en la semilla seca. la transcripción del mRNA se produce bastante rápidamente. Resumiendo, podemos dividir en dos grupos los genes expresados en el período de imbibición de las semillas viables: 1) los que codifican enzimas y otras proteínas necesarias para la actividad metabólica celular básico (p. ej., respiración, síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, síntesis de membranas) y que están incluidas como proteínas de housekeeping, y 2) los que pueden estar implicados en procesos específicos de la germinación. Finalmente, la hidratación de la semilla provoca la hidrólisis de algunas formas «conjugadas» de fitohormonas y su transformación en «libres». Con éstas y con las de nueva síntesis se inicia la acción hormonal del programa de desarrollo que conduce a la germinación de la semilla (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

La emergencia radicular el proceso por el cual la radícula o el eje embrionario atraviesan los tejidos envoltentes y pasan de un metabolismo preferentemente anaerobio a otro típicamente aerobio. La emergencia marca el fin de la germinación y el comienzo del crecimiento de la plántula. Este proceso lo conduce básicamente la elongación celular, y puede estar acompañado de actividad mitótica. El crecimiento radicular (proceso que provoca la emergencia) deberá estar desencadenado por un «ablandamiento» de la pared celular y la acción posterior de la presión de turgencia de las células localizadas en la región subapical (zona de elongación). La señal que induce el inicio de la elongación y el mecanismo íntimo de ésta no se conoce (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

Los niveles, la sensibilidad tisular y la señalización de varias fitohormonas cambian drásticamente durante el proceso de germinación. Dos



tipos de fitohormonas, GAs y ABA, y probablemente el etileno, tienen funciones clave en el inicio y el mantenimiento de la germinación. Sin embargo, el mecanismo por el que las fitohormonas controlan la germinación está lejos de conocerse con detalle (Azcón-Bieto y Talon, 2013).

2.2.4 Envejecimiento acelerado de semillas.

El ensayo de envejecimiento acelerado es uno de los métodos más sensibles, eficientes y utilizados para evaluar el vigor de semillas en varias especies cultivadas (Filho, 2015), permitiendo identificar el comportamiento de las semillas sometidas a estrés provocado por alta temperatura y humedad relativa durante un periodo determinado (Filho, 2005).

El estrés por calor se define como la serie de daños irreversibles en el metabolismo y el desarrollo de las plantas que pueden causar las altas temperaturas y es un fenómeno complejo que involucra la duración del estrés, la tasa de incremento y la temperatura máxima alcanzada (Porch y Hall, 2013). El estrés por alta temperatura afecta el establecimiento de los cultivos desde la germinación de las semillas, y tiene efectos inmediatos sobre el vigor de las plántulas. La germinación de semillas se puede ver afectada por altas temperaturas ($>35^{\circ}\text{C}$), como sucede en el tomate, en ají, en apio, en lechuga y espinaca, lo cual es conocido como termo-inhibición. Las altas temperaturas pueden disminuir o inhibir totalmente la germinación de las semillas dependiendo de las especies y de la intensidad del estrés. Además, la respuesta al estrés por calor está constituida por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), de proteínas de choque térmico, y de otras proteínas relacionadas con el estrés que afectan el crecimiento y desarrollo de plantas (Wahid *et al.*, 2007)

De manera transitoria o constante, el estrés por calor causa cambios morfo-anatómicos, fisiológicos y bioquímicos en las plantas, que afectan su crecimiento y su desarrollo y puede conducir a una drástica reducción del rendimiento económico de las plantas cultivadas (Wahid *et al.*, 2007). Uno de los efectos primarios del estrés por temperatura es el aumento en la fluidez de la membrana plasmática y la pérdida de electrolitos (Wahid *et al.*, 2007; Porch y Hall, 2013).

Las plantas poseen diferentes mecanismos para sobrevivir bajo altas temperaturas, como adaptaciones a corto o largo plazo, adaptaciones fenológicas o morfológicas y mecanismos de ajuste como cambios en la orientación foliar (paraheliotropismo) (Fu y Ehleringer, 1989). Otros mecanismos de tolerancia incluyen alteraciones en la composición lipídica de las membranas (Wahid *et al.*, 2007), la producción de antioxidantes, la acumulación de osmolitos compatibles y pigmentos, y la síntesis de proteínas de choque térmico (HSPs) (Schwacke *et al.*, 1999; Iba, 2002; Mittler, 2002; Wang *et al.*, 2004; Almesenmani *et al.*, 2006; Taiz y Zeiger, 2006; Nagesh y Deveraj, 2008).

La termotolerancia es otro de los mecanismos de tolerancia al estrés por altas temperaturas y se refiere a la habilidad de adquirir tolerancia rápidamente, en horas incluso, y sobrevivir a temperaturas que de otro modo serían letales. La adquisición de termotolerancia es un fenómeno celular autónomo que normalmente resulta de la exposición previa a altas temperaturas, pero subletales (Vierling, 1991), y es coordinada a través de la señalización por medio de sustancias como el ácido abscísico (ABA), las ROS, el etileno y la expresión de las HSPs (Iba, 2002).

La calidad fisiológica de la semilla está relacionada directamente con la capacidad que tiene para emerger en diversas condiciones de campo; la prueba de germinación es la más común y aceptada para evaluar la calidad de la semilla, sin embargo, no es adecuada para conocer en toda su dimensión el potencial de establecimiento en el campo, por lo que se ha sugerido al vigor de la semilla como un factor adicional (Delouche y Caldwell, 1962). El vigor de un lote de semillas se define como el conjunto de propiedades que determinan el nivel de actividad y capacidad de las semillas durante la germinación y posterior emergencia de las plántulas. El vigor de un lote de semillas es el resultado de la interacción de una serie de características de las semillas, como constitución genética, condiciones ambientales y nutricionales que ha estado sometida la planta madre durante el periodo de formación, grado de madurez, tamaño, peso, integridad mecánica, grado de deterioro y envejecimiento, así como contaminación por organismos patógenos.

Los ensayos de vigor utilizados más frecuentemente son: i) ensayos de crecimiento y evaluación de plántulas dónde se mide la longitud de diversas partes de la plántula al cabo de un determinado periodo de desarrollo, ii) ensayo de frío, que se utiliza principalmente en maíz (*Zea mays*), y en él se evalúa el vigor indirectamente, a través del efecto que tiene el tratamiento de las semillas a bajas temperaturas, sobre el posterior crecimiento y desarrollo de las plántulas, iii) ensayo de conductividad eléctrica: se basa en el deterioro de las semillas y su pérdida de vigor está asociado a alteraciones de las membranas celulares, que implican un incremento de la salida de compuestos solubles (lixiviados) desde las semillas, iv) ensayo de envejecimiento acelerado de las semillas: el cual se logra sometiéndolas a condiciones en las que se produce un deterioro muy rápido: temperaturas elevadas (40-45°C) durante periodos variables según la especie (48 a 72

horas) y alta humedad ambiental. Tras el tratamiento, se evalúa la capacidad germinativa de las semillas (García y Villamil., 2001).

Para evaluar el vigor en semillas de maíz en ensayos de envejecimiento acelerado se sugiere una temperatura de 42°C, con una humedad relativa de 100% durante 84 horas, en una cámara de envejecimiento artificial (Delouche y Baskin, 1973); Baskin en 1981 sugiere para maíz 96 horas de exposición.

CAPITULO III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOTUBOS DE TITANIO POR ANODIZACIÓN ELECTRÓQUÍMICA.

La obtención de TNT es por el método de anodización electroquímica descrito por (Rahman MA, 2016). Este método es una reacción de oxidación-disolución electroquímica. La lámina de titanio se pule primero mecánicamente con diferentes lijas, se enjuagan en un baño a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) con agua desionizada durante 10 minutos, las láminas de titanio se enjuagan con acetona y etanol en un baño ultrasónico durante 10 minutos, respectivamente. La anodización electroquímica se llevó a cabo a temperatura ambiente en una celda con dos electrodos a un potencial constante de 15 V. La placa de titanio actúa como ánodo y el cátodo es el platino. Se utilizó el Fluoruro de amonio (NH_4F) como electrolito en solución de 0.5% en peso.

La solución del electrolito de 0.5% en peso de Fluoruro de amonio NH_4F (Sigma-Aldrich) se disolvió en una solución del sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ al 1M. Los electrodos estuvieron a una distancia de aproximadamente 2 cm. La agitación fue de 4.5 rpm. El potencial fue incrementado de 0 a 15 volts gradualmente a posterior se mantuvo constante durante 10 minutos.

El material obtenido después de la anodización fue caracterizado en el microscopio de barrido SEM Hitachi SU5000 obteniendo las imágenes que se muestran el capítulo IV.



3.2 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO (AuNPS).

La síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) fue realizada por el método químico descrito por Turkevich *et al.* Las AuNPs se sintetizaron por reducción de HAuCl_4 en agua desionizada con citrato de sodio. Para este propósito, se disolvieron 19.73 mg de HAuCl_4 en 50 ml de agua desionizada ($\sim 18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$). La solución se calentó hasta 80°C y se agitó vigorosamente, se adicionó una solución compuesta de 57.05 mg de citrato de sodio en 5 ml de agua desionizada ($\sim 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$). Se mantuvo la solución de reacción a una temperatura constante de 80°C durante 15 minutos adicionales, en una parrilla manteniendo la agitación vigorosa hasta que la solución de reacción viró a un color vino, se retiró del calor se dejó agitando durante 1 h para que se enfriara. La solución se almacenó a 4°C hasta su uso.

Espectros ultravioleta-visible (UV-Vis) correspondientes a las AuNPs se midieron utilizando un Perkin Elmer Lambda 900 espectrofotómetro equipado con deuterio-halógeno lámpara (Perkin-Elmer Inc., EE. UU.). Dispersión dinámica de la luz/ Las mediciones de espectroscopía de correlación de fotones (DLS) fueron realizadas utilizando el espectrómetro Malvern Zetasizer (nano ZS) (Malvern Panalytical Ltd., Reino Unido) para determinar el tamaño hidrodinámico promedio de los AuNPs coloidales. La superficie de los grupos funcionales se registraron utilizando el Accesorio de reflectancia (ATR) en el Varian 660 Fourier Espectrofotómetro Transform Infrared (FTIR) [Varian (Agilent) Inc., EE. UU.]. Las características morfológicas adicionales de AuNPs y se midieron utilizando un Microscopio electrónico de barrido (SEM) Hitachi SU5000.



3.3 INTERACCIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (*ZEA MAYS*) “ALBATROS” VIABLES Y ENVEJECIDAS ARTIFICIALMENTE POR CALOR CON CNT.

Para conocer los efectos de CNT comerciales en la germinación y crecimiento de semillas de maíz (*Zea mays*) se realizó una prueba en la variedad híbrida denominada “Albatros” ya que tiene un porcentaje de germinación del 93.3%. Las semillas de maíz envejecidas fueron expuestas a calor el primer grupo fue el grupo control, los otros tres grupos recibieron tratamiento térmico en un horno, los tratamientos que se les dio a cada grupo fueron los siguientes: se colocó el primer grupo en un horno a 40°C por un periodo de 4 h. El segundo grupo se colocó en el horno a 50°C por un periodo de 2 h 47 min. El tercer grupo se colocó en el horno a 60°C por un periodo de 2h 05 min. Los períodos de tiempo de los tratamientos térmicos a 50°C y 60°C fueron los que corresponden a la igualación de la potencia térmica impartida a las semillas a 40°C. El cuarto grupo se colocó el horno a 60°C por un periodo de 14 horas para tenerlo como blanco positivo a envejecimiento como se muestra en la siguiente tabla 2.

Tabla 2. Muestra los tratamientos térmicos para cada grupo de semillas seleccionadas para la prueba de germinación.

TEMPERATURA	TIEMPO HRS
40°C	4
50°C	2: 47'
60°C	2: 05'
60°C	14

El diseño experimental consta de 10 tratamientos: Blanco positivo a envejecimiento (MS+), blanco negativo a envejecimiento (MS-), MS 40°C, MS 50°C, MS 60°C, blanco positivo a envejecimiento con nanotubos de carbono



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



(NTC +), blanco negativo a envejecimiento con nanotubos de carbono (NTC-), NTC 40°C, NTC 50°C, NTC 60°C.

Se realizaron 4 réplicas de cada tratamiento con 5 individuos. Se colocaron las semillas previamente esterilizadas a germinar en cada tratamiento en cajas petri estériles, las cajas se colocaron en una cámara de crecimiento Percival AR95L durante 15 días.

3.4. EFECTO DE MWCNT Y AuNPs EN EL PROCESO DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (*ZEAMAYS*) CON ENVEJECIMIENTO ACELERADO CON CALOR SECO.

3.4.1 Material biológico.

Se utilizaron semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido de la variedad “Albatros” (Asgrow®) esta línea híbrida es sugerida para el cultivo en los valles altos de México.

3.4.2 Desinfección de las semillas.

Las semillas fueron colocadas en una solución al 20% v/v de cloro (cloralex) durante 7 minutos y se enjuagaron e veces con agua purificada estéril.

3.4.3 Envejecimiento artificial de semillas por calor seco.

El tratamiento de envejecimiento térmico se realizó en el horno de secado marca Binder el cual fue calibrado a la temperatura de envejecimiento 40°C, 50°C y 60°C en diferentes tiempos como se muestra en la tabla 1, se



sacaron las muestras del horno, se dejaron a temperatura ambiente para que se establezca la temperatura para la prueba de germinación ver tabla 1.

3.4.4 Diseño experimental.

Consta de 15 tratamientos: Blanco positivo a envejecimiento (MS+), blanco negativo a envejecimiento (MS-), MS 40°C, MS 50°C, MS 60°C, blanco positivo a envejecimiento con nanotubos de carbono (NTC +), blanco negativo a envejecimiento con nanotubos de carbono (NTC -), NTC 40°C, NTC 50°C, NTC 60°C, blanco positivo a envejecimiento con nanopartículas de Oro (NPsAu +), blanco negativo a envejecimiento con nanopartículas de Oro (AuNPs), AuNPs 40°C, AuNPs 50°C, AuNPs 60°C. Se harán 4 réplicas de cada tratamiento con 5 individuos. Las concentraciones de los tratamientos suplementados con NTC y NPsAu es de 20 ppm y 127.29 ppm respectivamente.

3.4.5 Síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs).

La síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) fue realizada por el método químico descrito por Turkevich *et al.* Las AuNPs se sintetizaron por reducción de HAuCl_4 en agua desionizada con citrato de sodio. Para este propósito, se disolvieron 19.73 mg de HAuCl_4 en 50 ml de agua desionizada ($\sim 18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$). La solución se calentó hasta 80°C y se agitó vigorosamente, se adicionó una solución compuesta de 57.05 mg de citrato de sodio en 5 ml de agua desionizada ($\sim 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$). Se mantuvo la solución de reacción a una temperatura constante de 80°C durante 15 minutos adicionales, en una parrilla manteniendo la agitación vigorosa hasta que la solución de reacción viró a un color vino, se retiró del calor se dejó agitando durante 1 h para que se enfriara. La solución se almacenó a 4° C hasta su uso.



3.4.6 Germinación de las semillas.

Las semillas de maíz (*Zea mays*) se colocaron en placas de Petri que contenían 20 ml de medio MS (Murashige y Skoog 1962) suplementado con 1% de sacarosa y otra muestra de semillas en 20 ml de agua purificada estéril. Las placas de Petri con semillas se mantuvieron en una cámara de crecimiento (Percival AR95L) a 24°C con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad durante 13 días. El conteo de las semillas germinadas se realizó diario hasta los 13 días después de la siembra expresando los resultados en porcentaje.

3.5 ESTANDARIZACIÓN DEL ENVEJECIMIENTO POR CALOR SECO EN SEMILLAS DE MAÍZ (*ZEA MAYS*).

Se utilizaron semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido de la variedad “Albatros” (Asgrow®). Esta línea híbrida es sugerida para el cultivo en los valles altos de México.

3.5.1 Desinfección de las semillas.

Las semillas fueron colocadas en una solución al 20% v/v de cloro (Cloralex) durante 7 minutos y se enjuagaron 7 veces con agua purificada estéril.

3.5.2 Envejecimiento artificial de semillas por calor seco.

Para evaluar el efecto del envejecimiento artificial por calor seco en semillas de maíz (*Zea mays*), el diseño experimental constó de 14 tratamientos y un blanco, cada tratamiento con 2 repeticiones y cada repetición con 10 individuos para el envejecimiento por calor a diferentes temperaturas: 60°C,



65°C, 70°C y 80°C. Los tratamientos variaron según el tiempo de exposición a las diferentes temperaturas y el sustrato en el cual se llevó a cabo la germinación; los tratamientos se muestran en la tabla 3. El tratamiento de envejecimiento térmico fue en cadena; es decir, el horno de secado marca Binder fue calibrado a la temperatura de envejecimiento a evaluar, el primer tratamiento que fue colocado en el horno de secado fue el tratamiento T1, a las 24 horas se colocó el T2 y así sucesivamente; al cumplirse el tiempo especificado para el T1 se sacaron todas las muestras del horno y se dejaron a temperatura ambiente para que se estabilizará la temperatura para la prueba de germinación.

Tabla 3.- Tabla que muestra los diferentes tratamientos térmicos a los que fueron expuestas las semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido "Albatros".

TRATAMIENTO	T1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8	T 9	T1 0	T1 1	T1 2	T1 3	T1 4	BLANCO
DÍAS DE TRATAMIENTO TÉRMICO	21	20	19	16	15	14	13	9	8	7	4	3	2	1	0

3.5.3 Extracción, tinción y observación del embrión al microscopio.

Para la visualización del daño en el embrión se realizó un tratamiento térmico de envejecimiento acelerado por calor seco en las semillas de maíz; el TT fue de 70°C durante 4 días, ya que con los resultados anteriores sabemos que el porcentaje de germinación disminuyó drásticamente y se compararon con semillas sin tratamiento térmico. Las semillas de maíz (*Zea mays*) con y sin TT se hidrataron una hora en agua corriente, se extrajo el embrión, se hicieron cortes finos del mismo con bisturí con el apoyo del estereoscopio marca Zeigen; los cortes se tiñeron con azul de metileno y se

visualizaron tanto en el estereoscopio marca Zeigen, como en el microscopio compuesto marca Zeigen.

3.5.4 Germinación de las semillas.

Las semillas de maíz (*Zea mays*) se colocaron en placas de Petri que contenían 20 ml de medio MS (Murashige y Skoog 1962) suplementado con 1% de sacarosa y otra muestra de semillas en 20 ml de agua purificada estéril. Las placas de Petri con semillas se mantuvieron en una cámara de crecimiento (Percival AR95L) a 24°C con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad durante 7 días. El conteo de las semillas germinadas se realizó diario hasta los 7 días después de la siembra, expresando los resultados en porcentaje.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOTUBOS DE TITANIO POR ANODIZACIÓN ELECTRÓQUÍMICA.

El material obtenido después de la anodización fue caracterizado en el microscopio de barrido SEM Hitachi SU5000 obteniendo las siguientes imágenes.

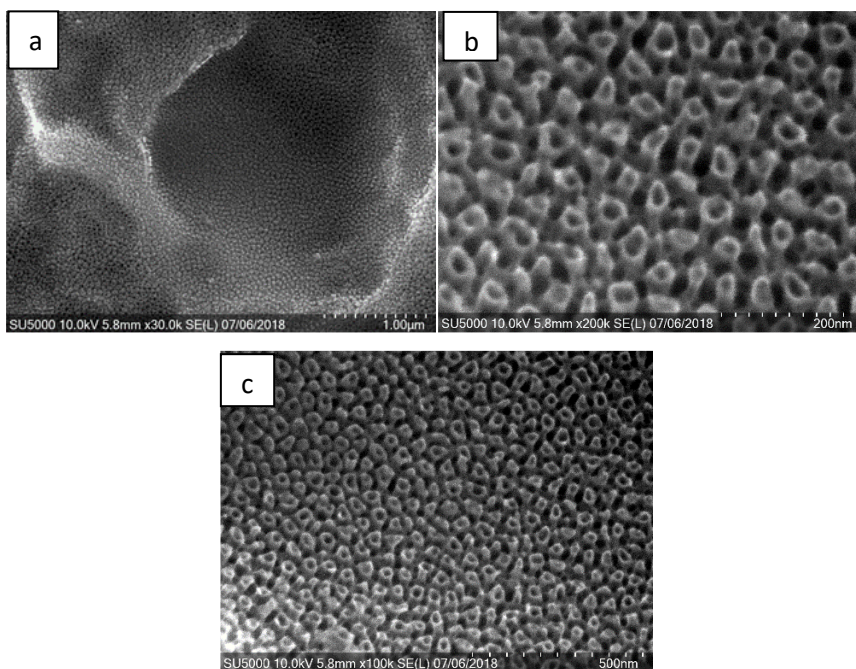


Figura 20. Imágenes SEM de TNT a diferentes ampliaciones a) 30000x, b) 100000x, c) 200000x. Se observa que el diámetro interno es de entre 30 y 50 nm y el espesor de las paredes es de 20 nm.

4.2 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO (AuNPs).

Se presentan los resultados de la caracterización de las nanopartículas de oro (AuNPs). Se tomaron imágenes en el microscopio de barrido SEM Hitachi SU5000 ver figura 1 letra A. Con ayuda del programa imagej se evaluó

el tamaño de las AuNPs el tamaño promedio de las nanopartículas es de $20.408 \text{ nm} \pm 2.64 \text{ nm}$. Para complementar la caracterización se utilizó la técnica de difusión dinámica de la luz (DLS), para realizar una estimación del diámetro de las nanopartículas de oro, se obtuvo el tamaño del diámetro la partícula es de 17.94 nm ver figura 21 letra B. Se tomo un espectro por el equipo de FTIR para corroborar los grupos funcionales en la figura 21 letra D se observa claramente las AuNPs y el citrato de sodio.

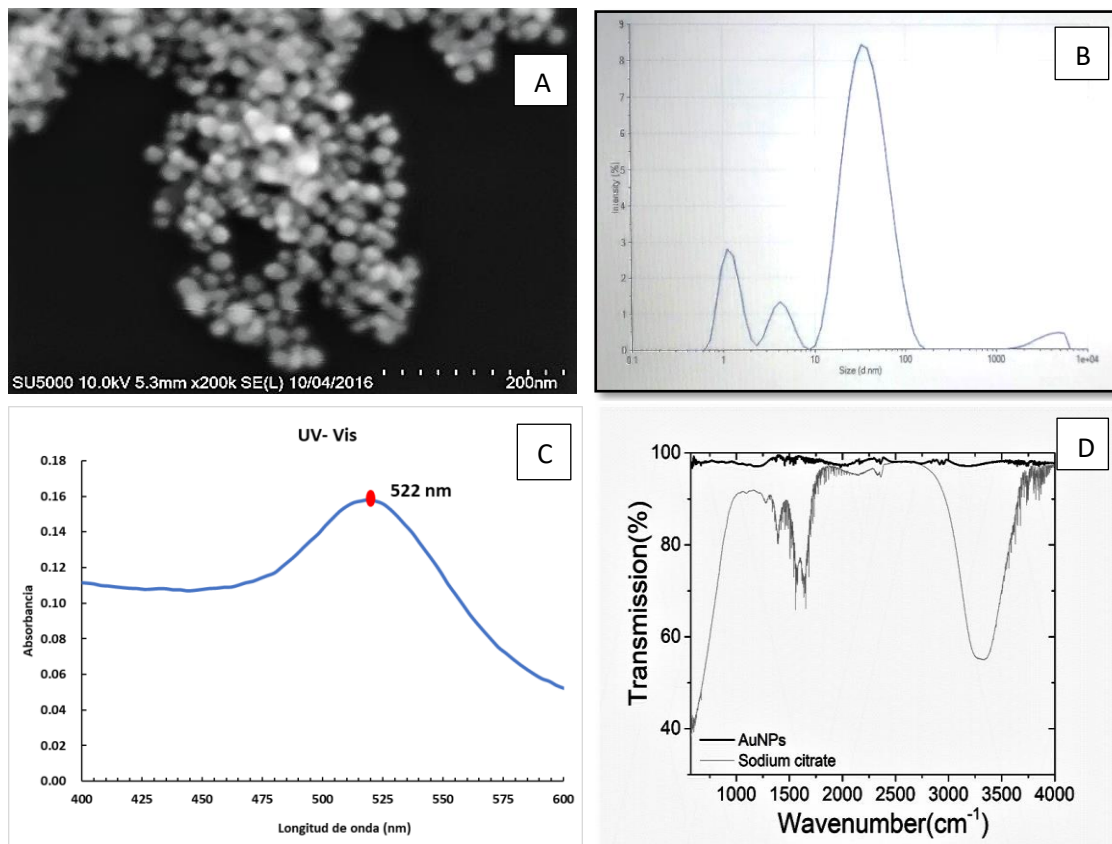
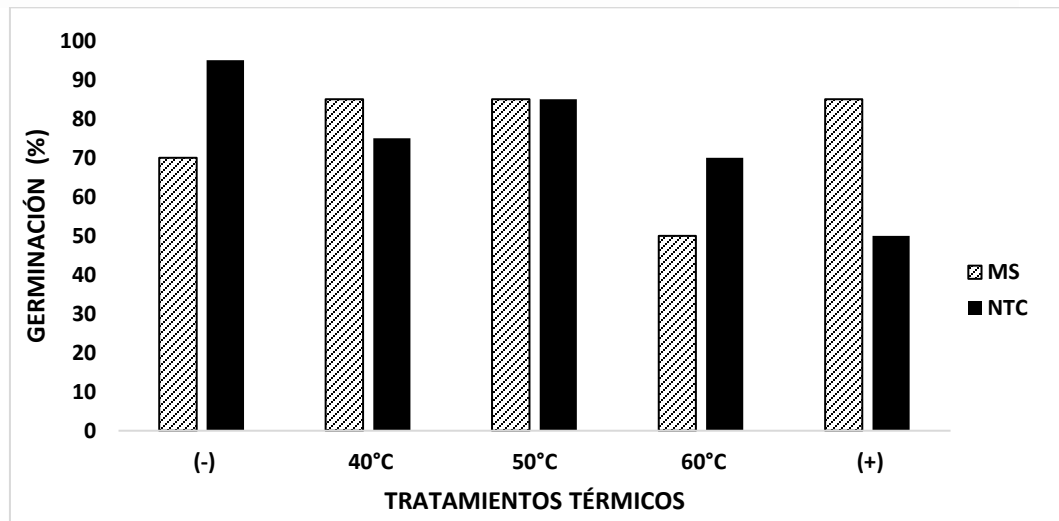


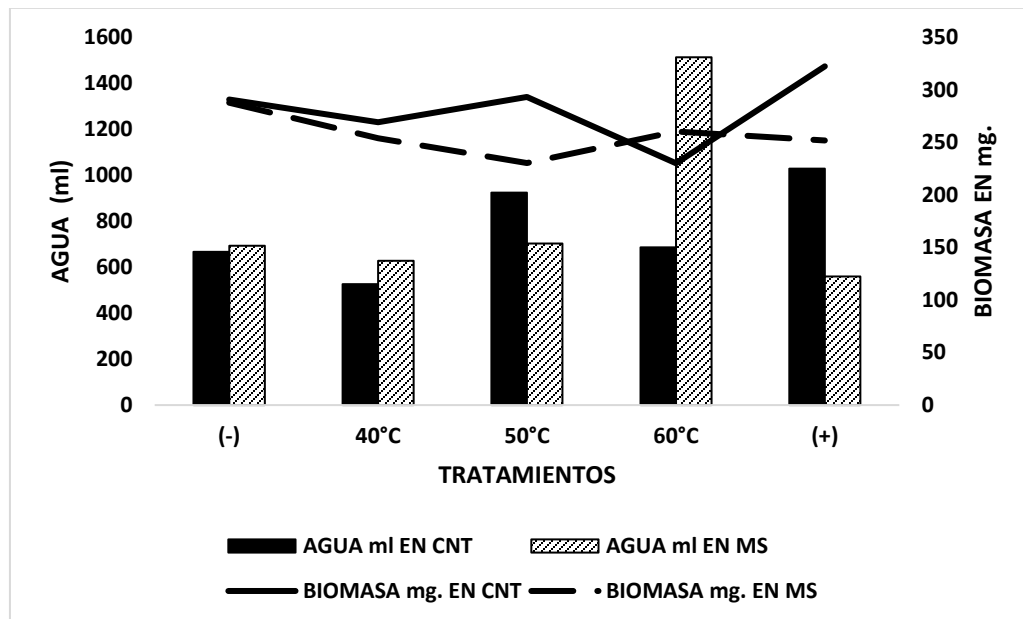
Figura 21. A) Imagen de SEM de las nanopartículas de oro (AuNPs). B) Distribución del diámetro de las nanopartículas de oro (AuNPs) caracterizado por la técnica DLS. C) Espectro del UV-Vis. D) Espectro del FTIR.

4.3 INTERACCIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (*ZEA MAYS*) “ALBATROS” VIABLES Y ENVEJECIDAS ARTIFICIALMENTE POR CALOR CON CNT.

Los CNT tuvieron un efecto en la germinación de las semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” diferente para cada caso; se puede observar en la gráfica 1 que los CNT tuvieron un efecto positivo en la germinación en aquellas semillas viables (aquellas que no fueron expuestas al calor que corresponden al tratamiento negativo) superando el número de semillas germinadas en el blanco (Murashige & Skoog (MS)); para el caso de aquellas que fueron expuestas a 40°C la cantidad de semillas germinadas fue menor con CNT que en MS y se repite este comportamiento en el tratamiento de 50°C, algo interesante ocurrió en aquellas semillas que fueron expuestas a 60°C ya que los CNT tuvieron un efecto positivo al aumentar la cantidad de semillas germinadas en comparación con aquellas que se sembraron en agar MS logrando un comportamiento parecido al blanco negativo (aquellas semillas que no fueron expuestas al calor), por tal motivo podemos inferir que los CNT tienen un efecto positivo en el restablecimiento de la viabilidad de las semillas envejecidas expuestas a calor a 60°C. Para las semillas que fueron expuestas a 60°C pero por un periodo de tiempo más prolongado tratando de obtener un blanco positivo al envejecimiento en este caso particular para este tipo de híbrido no fue el esperado ya que germinaron un gran número de semillas en agar MS y las expuestas a CNT también germinaron una considerable cantidad pero no superó a las sembradas en agar MS aunque si fue el menor número de semillas germinadas en el caso de las expuestas a CNT.



Gráfica 1.- Muestra el porcentaje total de semillas germinadas en nueve días.



Gráfica 2.- Muestra la cantidad de agua captada promedio en plantas de maíz (Zea mays) sembradas en MS y MS+CNT (en barras) y la biomasa promedio de plantas sembradas en MS y MS+CNT (líneas).

Como se puede observar en la gráfica 2 la cantidad captada de agua fue mayor en las plantas sembradas en MS y expuestas a 60°C aun superando



el blanco negativo para envejecimiento por calor. En cuanto a la biomasa fue mayor en el blanco negativo a envejecimiento por calor que se encuentra marcado como el tratamiento (-). En cuanto aquellas plantas que fueron sembradas en MS+CNT el tratamiento en el cual captaron mayor cantidad de agua fue en el blanco positivo a envejecimiento por calor marcado como (+) superando el blanco negativo a envejecimiento por calor, lo cual nos permite comprobar que los CNT aumentan el transporte de agua y nutrientes a través de membranas. Sin embargo, se puede observar que no existe una correlación positiva entre la captación de agua y el tratamiento de envejecimiento; respecto a la cantidad de biomasa también fue mayor en el tratamiento marcado como (+) que es el blanco positivo a envejecimiento por calor por tal motivo podemos afirmar que fueron las plantas que alcanzaron una mayor talla de raíz y follaje. De tal manera que con los resultados obtenidos podemos afirmar que el efecto de los CNT en plantas de maíz es variable para cada variedad.

En la figura 22 (a) se muestra una fotografía del crecimiento de plantas sembradas en MS+CNT a los 15 días después de la siembra y se puede observar que las plantas pertenecientes al tratamiento + (60°C durante 14 hrs) expuestas a CNT son las de mayor talla en comparación con aquellas que fueron sembradas en MS (b).

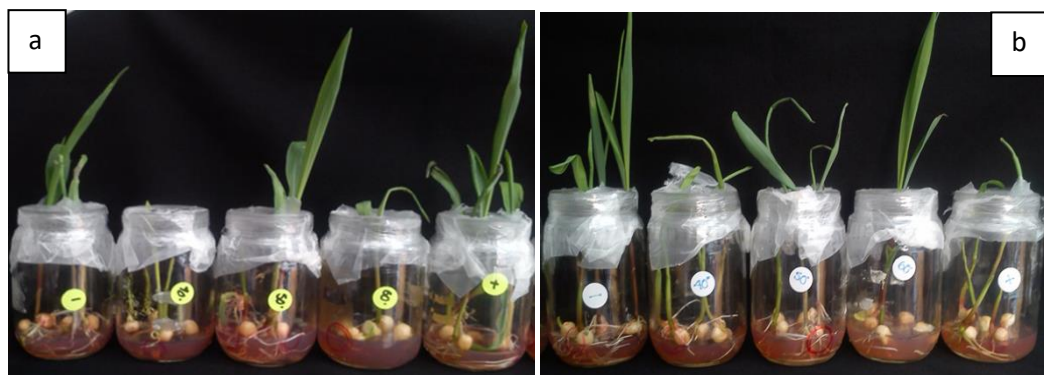


Figura 22.- Fotografía tomada a los 15 días después de la siembra. Se muestra las plantas de maíz (*Zea mays*) sembradas en MS+CNT (a); plantas sembradas en MS (b). Las etiquetas muestran el tratamiento al cual fueron envejecidas artificialmente.

4.4 PRUEBA DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (*ZEA MAYS*) HÍBRIDO “ALBATROS” EXPUESTAS A NTC Y AuNPs.

Los resultados obtenidos de la prueba de germinación de las semillas expuestas a NTC y AuNPs se muestran a continuación ver tabla 4.

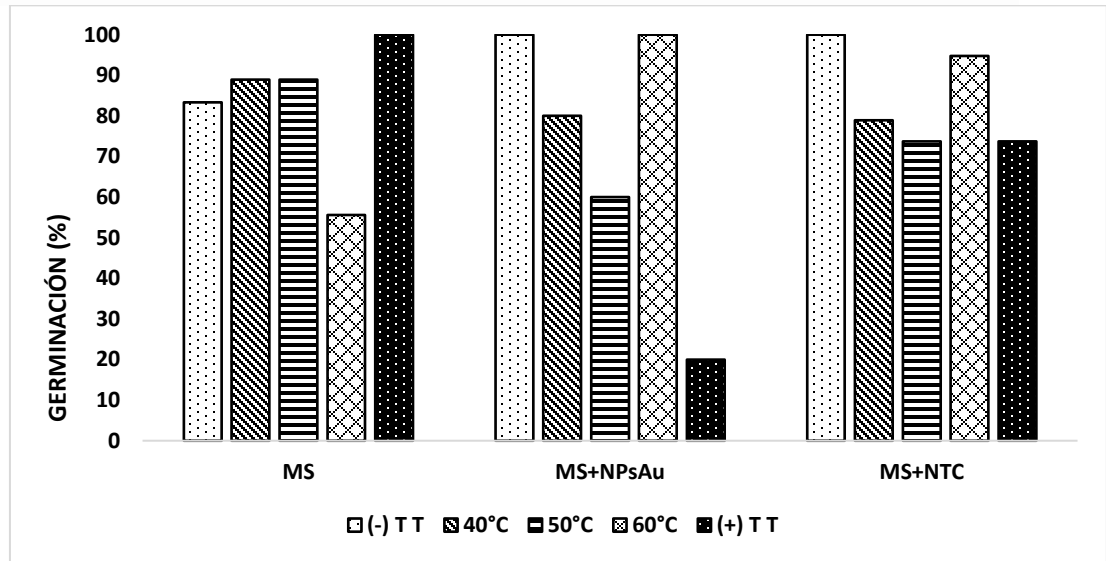
Tabla 4. Muestra el número de semillas germinadas de un total de 20 a diferentes tratamientos de envejecimiento y expuestas a MWCNT y a AuNPs.

TRATAMIENTOS	SEMILLAS GERMINADAS EN MS	SEMILLAS GERMINADAS CON NPsAu	SEMILLAS GERMINADAS CON MWCNT
(-)	15	15	19
40°C	16	12	15
50°C	16	9	14
60°C	10	15	18
(+)	18	3	14

El porcentaje de germinación para cada tratamiento se muestra en la gráfica 3. El porcentaje de germinación para el blanco negativo a envejecimiento en agar MS fue de un 75% se puede observar que los



nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) tienen un efecto estimulante en el proceso de germinación aumentándolo hasta en un 95%, por otro lado, las nano partículas de oro (AuNPs) no tienen ningún efecto pues el porcentaje se mantiene igual. Para el caso del tratamiento en el que las semillas fueron envejecidas artificialmente a 40°C se encontró que esta temperatura es estimulante para la germinación de las semillas en agar MS pues aumento en un 5%, en caso contrario las AuNPs tienen un efecto inhibitorio en el porcentaje de germinación reduciéndolo en un 60% y los MWCNT no tienen ningún efecto. Para el tratamiento de envejecimiento a 50°C la temperatura es estimulante para la germinación aumentando un 5% mientras que tanto los MWCNT como las AuNPs son inhibitorios pues disminuye el % de germinación a 70% y 45% respectivamente. Para el tratamiento de envejecimiento a 60°C de acuerdo a los datos obtenidos se observó que la temperatura es inhibitoria ya que disminuye el % de germinación de un 75% a 50%, sin embargo, los MWCNT y las AuNPs presentan un efecto estimulante en la germinación con un 90% y 75% respectivamente se debe enfatizar que esta temperatura el daño puede ser restablecido por las AuNPs ya que mantiene el mismo valor del porcentaje con el blanco negativo a envejecimiento. En el tratamiento considerado como blanco positivo a envejecimiento se encontró que el tratamiento térmico a 60°C durante 14 horas es estimulante ya que aumento de un 75% a un 90% la germinación en el agar MS, mientras que MWCNT tuvieron un efecto inhibitorio muy pequeño pues redujo el porcentaje de germinación de un 75% a un 70% y las AuNPs tuvieron un efecto altamente inhibitorio reduciendo de un 75% a 15% de germinación.



Gráfica 3.- Muestra el porcentaje de germinación de las semillas de maíz híbrido “Albatros” a diferentes tratamientos de envejecimiento y expuestas a MWCNT y AuNPs.

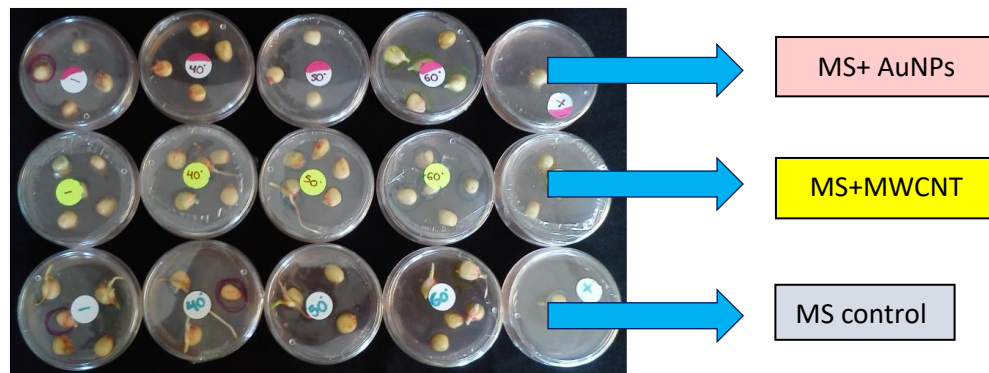


Figura 23.- Fotografía tomada a los 13 días después de la siembra donde se puede apreciar las semillas germinadas para cada tratamiento.



4.5 ESTANDARIZACIÓN DEL ENVEJECIMIENTO POR CALOR SECO EN SEMILLAS DE MAÍZ (*ZEAMAYS*).

El efecto de los diferentes tratamientos de envejecimiento por calor seco en la capacidad germinativa de semillas de maíz híbrido “Albatros” se puede observar en la gráfica 4. Los datos fueron obtenidos a los siete días después de la siembra en H₂O y MS respectivamente representando así un porcentaje de germinación total o acumulada.

Se encontró que la temperatura y el tiempo a la cual son expuestas las semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” modifican la capacidad germinativa expresada como porcentaje de germinación. El porcentaje de germinación de esta variedad de maíz con un tratamiento de envejecimiento por calor seco a una temperatura de 60°C en diferentes periodos de tiempo (0 a 21 días) no es lineal o proporcional, es oscilatorio (transformada de Fourier) para ambos sustratos líquidos H₂O y MS.

Para la prueba de germinación usando como sustrato H₂O se obtuvo el valor más alto después del envejecimiento acelerado fue de 80% que corresponde a las semillas que fueron envejecidas durante 15 y 21 días, el más bajo fue de 55% para las semillas que se envejecieron 13 días, para las semillas que tuvieron un periodo de tiempo de envejecimiento de 8 y 9 días fue de 70%, para las semillas envejecidas de 1 a 7, 14, 19 y 20 días fue de 75% disminuyendo un 25% la germinación en comparación con aquellas que no fueron envejecidas, éstos resultados son similares a los reportados por Durán *et al.* (2011) sus resultados mostraron un aumento del porcentaje de semillas muertas por calor seco de 65 a 78% siendo evidente el daño causado por este tipo de envejecimiento acelerado, Gutiérrez *e al* (2011) reporta que el calor seco redujo la cantidad de plántulas potencialmente productivas y la

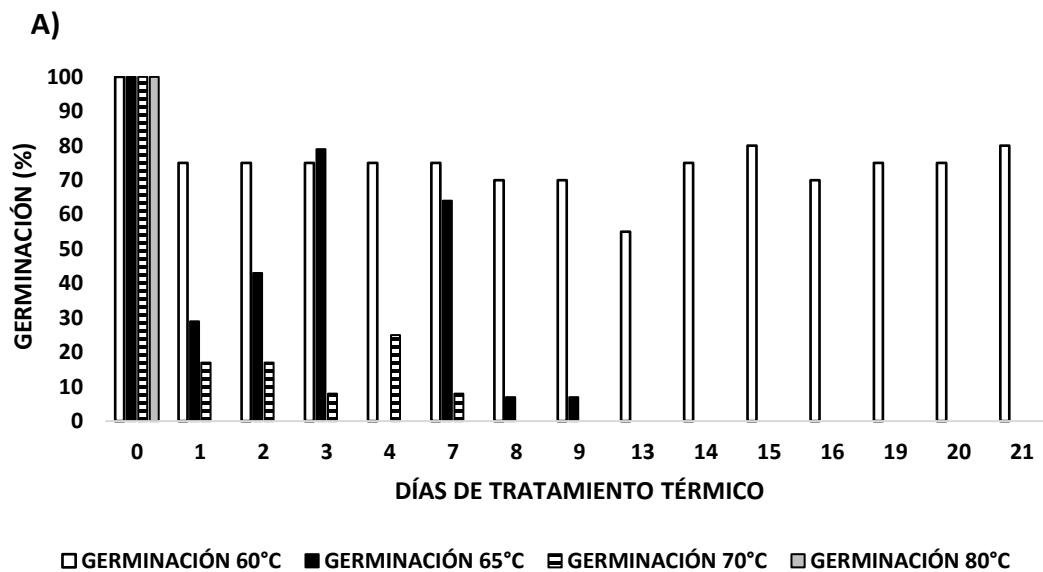
acumulación de materia seca, a la vez que incrementó la proporción de semillas muertas en maíz, en otros cereales concuerdan con Suarez-Castellanos *et al.* (2018) en semillas de triticale reporta que en un envejecimiento acelerado tradicional (EAT) a 48, 72 y 96 horas se da una disminución del porcentaje de germinación (que a medida que aumenta el tiempo disminuye el % de G) proporcional con respecto al tiempo los cuales también concuerdan con los resultados obtenidos por Tunes *et. al.* (2009) en semillas de cebada envejecidas tradicionalmente a 42°C por 96 horas y por Pedroso *et. al.* (2010) en semillas de trigo envejecidas a 41°C por 96 horas.

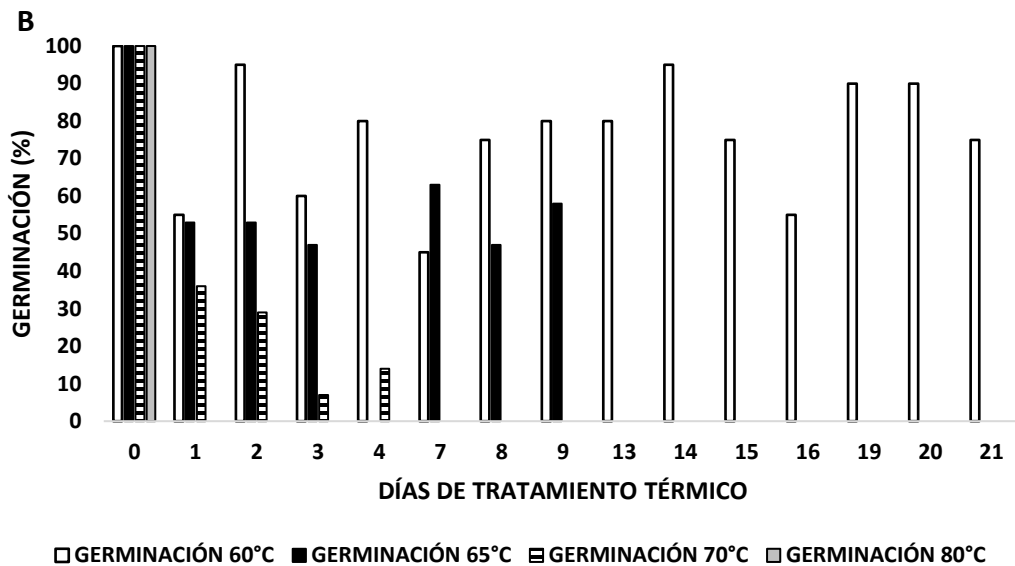
Para la prueba de germinación usando como sustrato MS el valor más alto después del envejecimiento acelerado fue de 95% que corresponde a las semillas que fueron expuestas 2 y 14 días, las semillas expuestas durante 19 y 20 días fue de 90%, para las semillas expuestas durante 4, 9 y 13 días fue de 80%, las expuestas durante 8, 15 y 21 días fue de 75%, las semillas expuestas durante 3 y 16 días fue de 60 y 55% respectivamente, el porcentaje más bajo de germinación fue para las semillas expuestas 7 días a 60°C.

En los estudios tradicionales con envejecimiento acelerado por calor seco se han probado en un periodo de tiempo de 0 hasta 96 horas de exposición al calor como lo sugiere Baskin (1981) para evaluar la calidad de semillas en su función de longevidad y capacidad de almacenamiento, sin embargo, en este estudio se aumentó el intervalo de la variable del tiempo hasta los 21 días para evaluar el efecto del envejecimiento en la germinación de la variedad de maíz híbrido “Albatros”. Otra variable que se amplió con el fin de encontrar el nivel de tolerancia de las semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” al envejecimiento acelerado por calor seco fue la temperatura, las pruebas se hicieron dejando fija la variable del tiempo 21 días,

pero modificando la temperatura de envejecimiento las cuales fueron: 60°C, 65°C, 70°C y 80°C.

Se obtuvieron resultados importantes los cuales muestran que esta variedad de maíz híbrido es tolerante al envejecimiento acelerado por calor seco a una temperatura de 60°C hasta los 21 días de exposición al calor en H₂O y MS ver gráfica 4 barras blancas. Por lo cual se infiere que para lograr tener un efecto inhibitorio de la germinación hay 2 posibles escenarios: 1) aumentar el tiempo de exposición de tratamiento térmico a la temperatura de 60°C, 2) aumentar la temperatura de tratamiento térmico en el mismo periodo de tiempo. Para fines de practicidad y de eficiencia en el tiempo se optó por el caso 2, los resultados se observan en la gráfica 4 y se explican a continuación.





Gráfica 4.- Efecto del tratamiento térmico en el porcentaje de germinación total acumulada. A) H₂O, B) MS. Muestra la germinación acumulada al séptimo día después de la siembra de las semillas de maíz con diferente tratamiento térmico. Muestra la disminución del porcentaje de germinación respecto al control para cada tratamiento térmico.

El porcentaje de germinación con tratamiento de envejecimiento por calor seco a 65°C en semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” en diferentes periodos de tiempo (0 a 21 días) muestra un comportamiento oscilatorio en ambos sustratos H₂O y MS. Los datos obtenidos para H₂O como sustrato muestran el porcentaje de germinación de 79% para las semillas envejecidas durante 3 días que es el más alto para los tratamientos con envejecimiento reduciendo un 21% la germinación en comparación con el testigo, las semillas envejecidas durante 7, 2 y 1 día fue de 64, 43 y 29% respectivamente, las semillas envejecidas 8 y 9 días fue de 7%, las semillas envejecidas durante 4, 13-16, y de 19-21 días el tratamiento fue letal reduciendo a 0% el porcentaje de germinación.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



En la prueba usando MS como sustrato se obtuvieron los siguientes datos para las semillas que fueron envejecidas durante 7, 9, 1, 2, 3 y 8 fueron de 63, 58, 53, 53, 47 y 47% respectivamente, mientras que para las semillas envejecidas a 4, 13-16 y 19-20 días fue de 0% obteniendo el mismo comportamiento, para este caso, cuando se usó H₂O como sustrato. De acuerdo a los datos obtenidos para esta variedad de maíz se encontró que a partir de los 9 días de ser expuestas las semillas a envejecimiento acelerado por calor seco a la temperatura de 65°C es letal en ambos sustratos H₂O y MS.

El porcentaje de germinación con tratamiento de envejecimiento por calor seco a 70°C en semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” en diferentes periodos de tiempo (0 a 21días) muestra un comportamiento oscilatorio en ambos sustratos H₂O y MS. Los datos obtenidos para H₂O como sustrato para las semillas expuestas al envejecimiento por calor seco a 70°C durante 4, 1, 2, 3 y 7 días fue de 25, 17, 17, 8 y 8% respectivamente, para las semillas envejecidas durante 8, 9, 13-16, y 19-21 fue de 0% de germinación. Los datos obtenidos para MS como sustrato para las semillas expuestas al envejecimiento por calor seco a 70°C durante 1, 2, 4 y 3 días fue de 39, 29, 14 y 7% respectivamente, para las semillas expuestas a envejecimiento acelerado de 7-9, 13-16 y 19-21 días fue 0% de germinación.

El porcentaje de germinación con tratamiento de envejecimiento por calor seco a 80°C en semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” en diferentes periodos de tiempo (0 a 21días) en H₂O y MS fue de 0% de germinación lo cual concuerda con Whaid *et al.* (2007) menciona que altas temperaturas pueden disminuir o inhibir totalmente la germinación de las semillas, dependiendo de las especies y de la intensidad del estrés; además, la respuesta al estrés por calor está constituida por la producción de especies



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



reactivas de oxígeno (ROS), de proteínas de choque térmico y otras proteínas relacionadas con el estrés que afectan el crecimiento y desarrollo de las plantas. La germinación de las semillas, se puede ver afectada por altas temperaturas ($>35^{\circ}\text{C}$), como sucede en tomate, ají, apio, lechuga y espinaca, lo cual, es conocido como termo- inhibición; sin embargo, la termo-tolerancia puede diferir entre cultivares de una misma especie, a causa del grado de actividad de la endo- β mannanase en la semilla (Nascimento *et al.*, 2000; Carter & Vavrina, 2001).

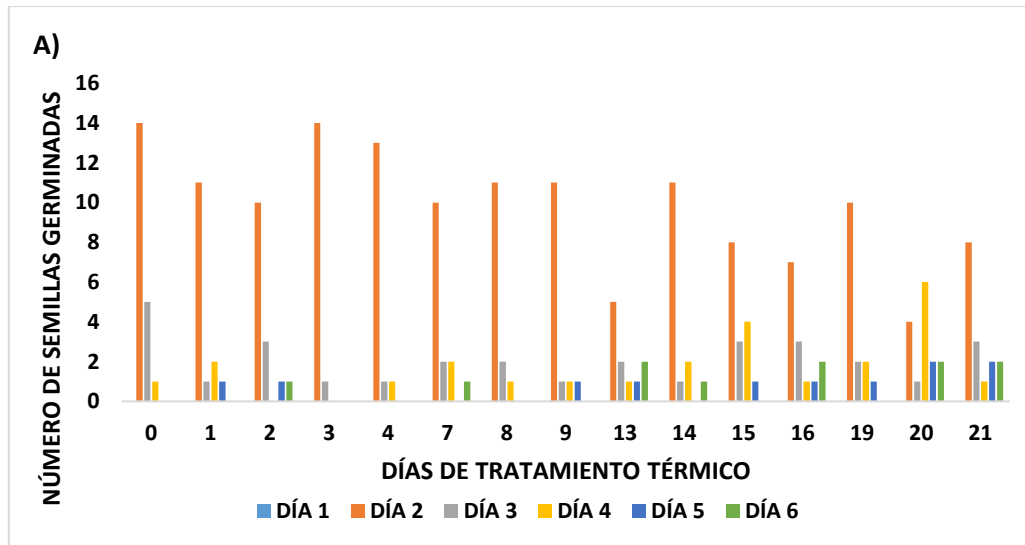
Los métodos de análisis de la germinación pueden diferenciarse en dos tipos: descriptivos y analíticos. Los descriptivos o gráficos permiten hacer una evaluación preliminar de los resultados, mientras que los analíticos consisten en la aplicación de funciones matemáticas que describen el comportamiento germinativo de las semillas.

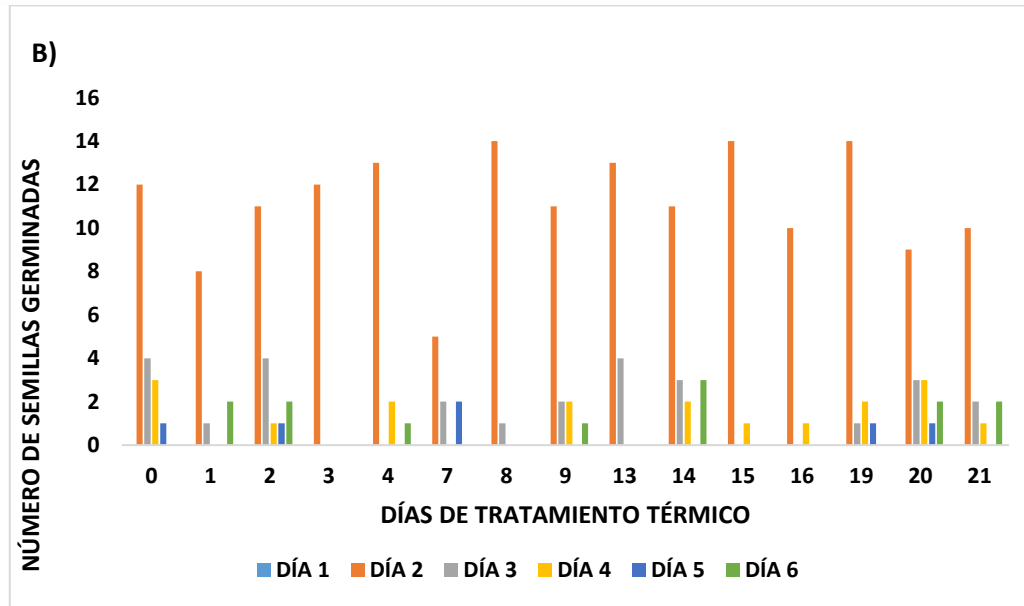
En los descriptivos tenemos como resultado las gráficas de germinación diaria que muestran el número de semillas germinadas por día. Describen la distribución de la germinación en el tiempo y el día en el que se logra el máximo número de semillas germinadas como se muestra en las gráficas 5, 6 Y 7.

En la gráfica 5 se observa que en el segundo día después de la siembra a 60°C germinan el mayor número de semillas en ambos sustratos H_2O y MS exceptuando a las semillas que fueron tratadas con un envejecimiento acelerado por calor seco a una temperatura de 60°C en un periodo de tiempo de 20 días, por lo cual podemos asegurar que a un tratamiento térmico de envejecimiento por calor seco a 60°C el tiempo de latencia es menor, en otras palabras, la temperatura de 60°C disminuye el tiempo de latencia el cual no se ve afectado por el periodo de tiempo al cual son expuestas las semillas desde

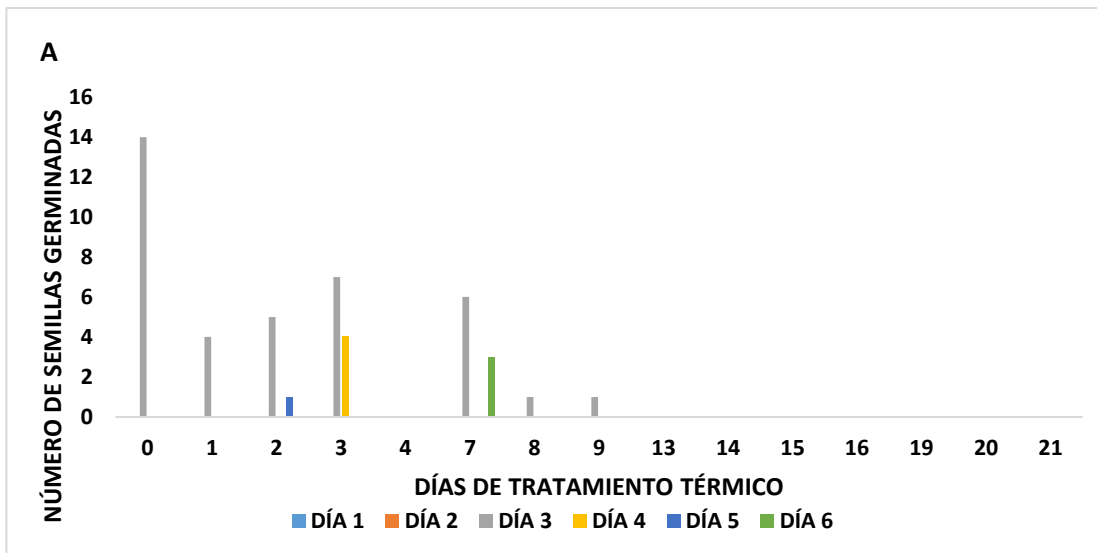
1 a 21 días, así como del sustrato en el que se lleve a cabo la siembra para dicha prueba.

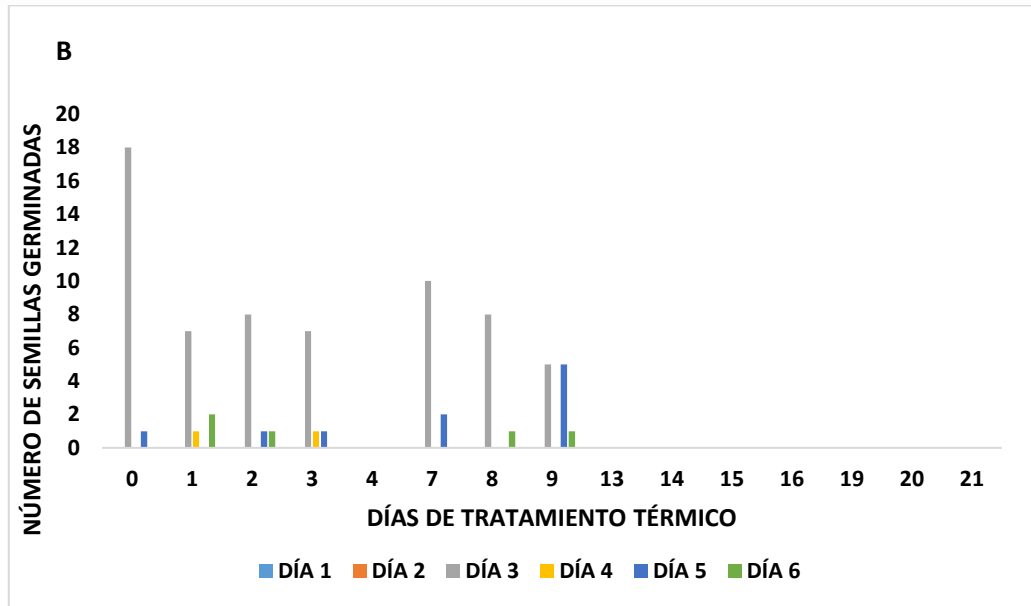
Por lo cual se puede inferir que para este tipo de envejecimiento acelerado con dichos parámetros el 50% de semillas germinadas se alcanza en el día 2. Además, se observa que hasta el día 6 después de la siembra las semillas siguen germinando, sin embargo, ya en el día 7 no germinan. Por lo cual para este tipo de envejecimiento las semillas de maíz híbrido “Albatros” son muy tolerantes ya que no modifica el porcentaje de germinación además de que el periodo o tiempo de latencia no se ve afectado, mostrando un comportamiento muy parecido al control negativo a envejecimiento al cual denominamos también blanco y que en las gráficas se observa como el tratamiento 0.



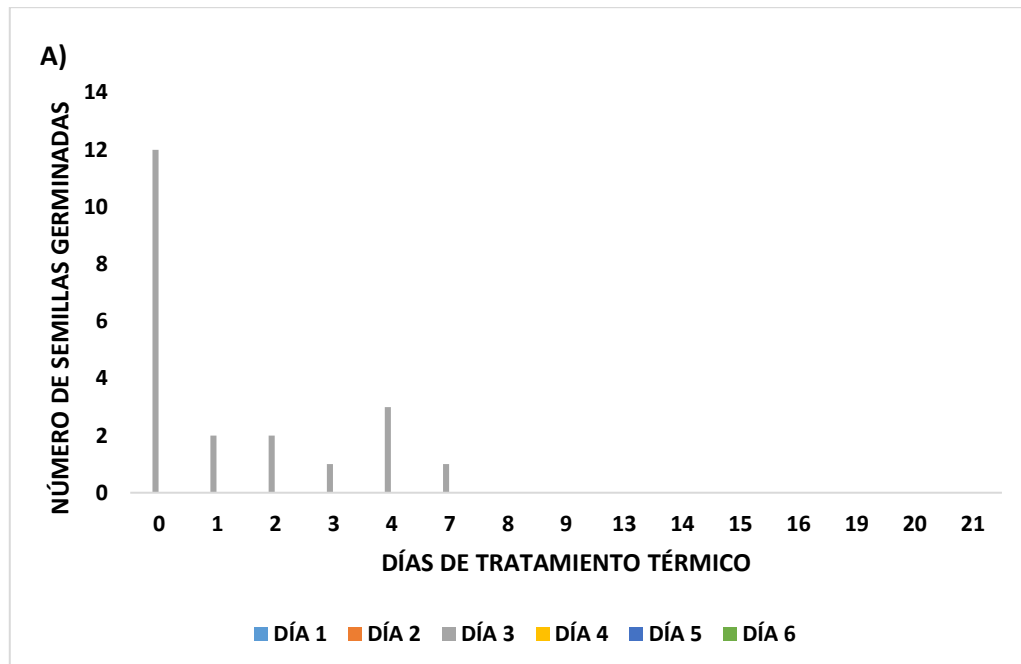


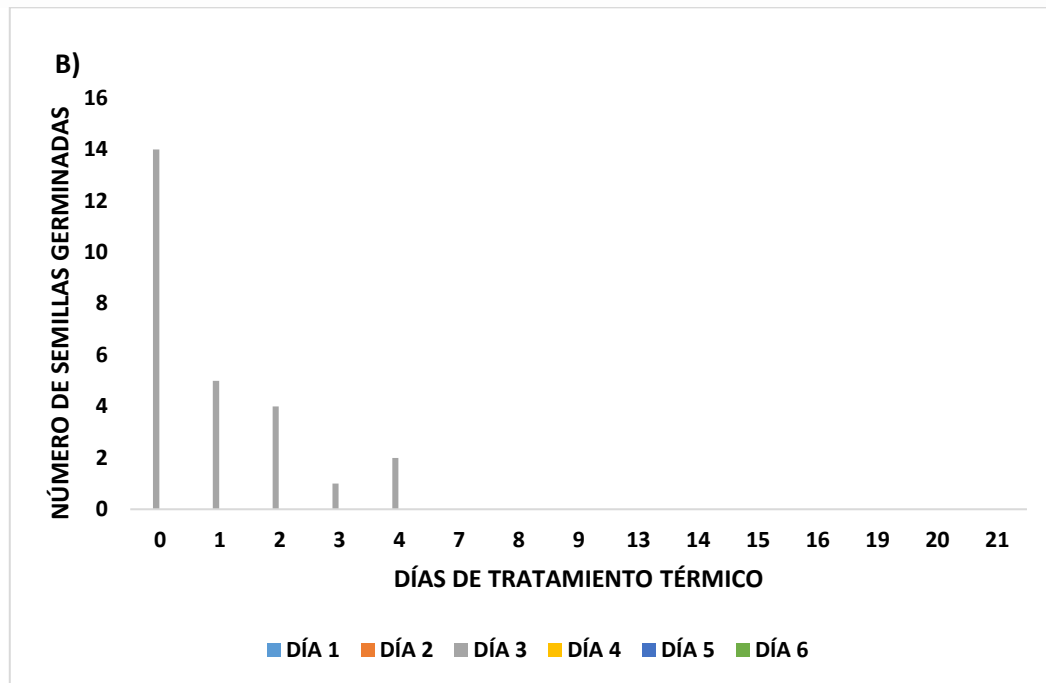
Gráfica 5.- Muestra la germinación diaria de semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido "Albatros" después del tratamiento térmico de envejecimiento por calor seco a 60°C; a) H₂O, b) MS.





Gráfica 6.- Muestra la germinación diaria de semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido "Albatros" después del tratamiento térmico de envejecimiento por calor seco a 65°C; a) H₂O, b) MS.





Gráfica 7.- Muestra la germinación diaria de semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” después del tratamiento térmico de envejecimiento por calor seco a 70°C; a) H₂O, b) MS.

Para el caso de la germinación diaria de la prueba a 80°C no se presenta gráfica ya que como se comentó anteriormente el porcentaje de germinación con tratamiento de envejecimiento por calor seco a 80°C en semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” en diferentes periodos de tiempo (0 a 21 días) en H₂O y MS fue de 0% de germinación.

La respuesta oscilatoria observada en la germinación de las semillas de maíz puede en parte estar relacionada con el fenómeno conocido como hormesis, que consiste en una respuesta incrementada de las plantas a agentes que generan estrés, como son: compuestos, algunos químicos y la luz. Se considera que esta respuesta es adaptativa y preconditiona a la planta para prepararse para una condición de estrés mayor. Las respuestas pueden ser en el crecimiento de las plantas, pero también se ha observado para la

germinación, en la que compuestos como el hipoclorito de sodio la incrementan (Calabresse y Baldwin, 1999). Se ha reportado que en la hormesis están implicadas especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, que originan cambios en la expresión de los genes (Antoniou *et al.*, 2016). Las dosis pequeñas de estrés que condicionan a las plantas pueden ser utilizadas con propósitos ecológicos y agrícolas, para adaptar las plantas a condiciones altas de estrés, como puede ser el incremento de temperatura debido al cambio climático (Agathokleous *et al.*, 2019). Lo anterior, aplicado a nuestro trabajo, permitiría usar dosis de temperatura no letales para preadaptar semillas de maíz para su cultivo en sitios de altas temperaturas.

Se analizaron los parámetros de Velocidad de Germinación (VG) que consiste en relacionar la capacidad de germinación con el tiempo de germinación, también conocido como el índice de Maguire (Maguire, 1962) con el cual se obtiene el número de semillas que germinan por día.

$$VG = \sum \left[\frac{n_i}{t} \right]$$

Dónde: VG= Velocidad de Germinación, n_i = número de semillas germinadas el día i , t = tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla.

Otro parámetro que se estudió fue el tiempo promedio de Germinación (tG) que es una medida del tiempo promedio de germinación que necesitan las semillas para germinar el cual se obtiene con la siguiente fórmula.

$$tG = \frac{\sum(n_i t_i)}{\sum n_i}$$

Dónde tG= tiempo promedio de Germinación, t_i = número de días después de la siembra, n_i número de semillas germinadas el día i.

Para este tipo de análisis fue necesario obtener los datos diarios de germinación desde el día 1 hasta el día 6 después de la germinación. Los resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5.- Muestra los valores obtenidos de VG y tG para las semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido "Albatros" con los datos obtenidos del número de semillas germinadas por día hasta los 6 días después de la siembra.

TRATAMIENTO	H2O								MS							
	60°C		65°C		70°C		80°C		60°C		65°C		70°C		80°C	
	VG	tG	VG	tG	VG	tG	VG	tG	VG	tG	VG	tG	VG	tG	VG	tG
0	3.3	2.4	2.3	3.0	2.0	3.0	1.7	3.0	3.3	2.7	3.2	3.1	2.3	3.0	1.8	3.0
1	2.5	2.5	0.7	3.0	0.3	3.0	0.0	0.0	1.8	2.8	1.7	3.7	0.8	3.0	0.0	0.0
2	2.5	2.7	1.0	3.3	0.3	3.0	0.0	0.0	3.2	2.9	1.7	3.5	0.7	3.0	0.0	0.0
3	2.5	2.1	1.8	3.4	0.2	3.0	0.0	0.0	2.0	2.0	1.5	3.3	0.2	3.0	0.0	0.0
4	2.5	2.2	0.0	0.0	0.5	3.0	0.0	0.0	2.7	2.5	0.0	0.0	0.3	3.0	0.0	0.0
7	2.5	2.7	1.5	4.0	0.2	3.0	0.0	0.0	1.5	2.9	2.0	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0
8	2.3	2.3	0.2	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	2.1	1.5	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0
9	2.3	2.4	0.2	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.7	2.6	1.8	4.2	0.0	0.0	0.0	0.0
13	1.8	3.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.8	2.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
14	2.5	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.2	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15	2.7	2.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	2.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
16	2.3	3.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.8	2.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
19	2.5	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20	2.5	3.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	3.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
21	2.7	3.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	2.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

A medida que aumenta la temperatura del tratamiento térmico, la velocidad de germinación (VG) decrece y se mantiene en su comportamiento oscilatorio a medida que aumenta el tiempo del tratamiento térmico, sin embargo, se observa que existe una mayor variabilidad en ambos parámetros cuando se usa MS como sustrato, lo cual puede ser atribuido el aumento de la fluidez de la membrana plasmática y la pérdida de electrolitos (Wahid *et al.*, 2007; Porch y Hall, 2013) de tal manera que las membranas se ven afectadas por el transporte de nutrientes a través de ellas.

La velocidad más alta a la que germinaron usando H₂O como sustrato fue de 3.3 semillas por día en aquellas semillas que no fueron expuestas a tratamiento térmico mientras que el valor más alto de VG para aquellas semillas con tratamiento térmico fue de 2.7 semillas por día en aquellos tratamientos expuestos a 60°C durante 15 y 21 días, el valor más bajo es de 0 semillas por día para las semillas que fueron expuestas a 65°C durante 4, 13 - 21 días, a 70°C durante 8 - 21 días, a 80°C se inhibe la germinación.

En MS como sustrato el valor más alto fue de 3.3 semillas por día en las semillas por día en aquellas semillas que no fueron expuestas a tratamiento térmico mientras que el valor más alto de VG para aquellas semillas con tratamiento térmico fue de 3.2 semillas por día en aquellos tratamientos expuestos a 60°C durante 2 y 14 días, el valor más bajo fue de 0 semillas por día para las semillas que fueron expuestas a 65°C durante 4, 13 - 21 días, a 70°C durante 7 - 21 días, a 80°C se inhibe la germinación.

En cuanto al tiempo promedio de Germinación (tG) aumenta a medida que aumenta la temperatura y el tiempo del tratamiento térmico, el valor más alto usando como sustrato H₂O es de 3.8 días que son los necesarios para que germinen las semillas que fueron expuestas a 65°C durante 7 días, el valor más bajo fue de 0.0 días para las semillas que fueron expuestas a 65° durante 4, 13 - 21 días, a 70°C durante 8 - 21 días, a 80°C se inhibe la germinación.

En MS como sustrato el valor más alto fue de 4.2 días que son los necesarios para que germinen las semillas que fueron expuestas a 65°C durante 9 días, el valor más bajo fue de 0.0 días para las semillas que fueron expuestas a 65°C durante 4, 13 - 21 días, a 70°C durante 7- 21 días, a 80°C

se inhibe la germinación. Las altas temperaturas pueden disminuir o inhibir totalmente la germinación de las semillas, dependiendo de las especies y de la intensidad del estrés (Wahid *et al.*, 2007).

4.5.1 Análisis de daño físico en embrión de semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” causado por envejecimiento acelerado por calor seco.

El efecto de los diferentes tratamientos térmicos (TT) de envejecimiento acelerado por calor seco en semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” modifica el porcentaje de germinación. Es importante para este estudio documentar el daño causado por TT en las semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” a nivel celular específicamente en embrión.

Para la visualización del daño en el embrión se realizó un tratamiento térmico de envejecimiento acelerado por calor seco en las semillas de maíz, el TT fue de 70°C durante 4 días ya que con los resultados anteriores sabemos que el porcentaje de germinación disminuyó drásticamente y se compararon con semillas sin tratamiento térmico. Las semillas de maíz (*Zea mays*) con y sin TT se hidrataron 1 hora en agua corriente para hacer más fácil la extracción del embrión, se extrajo el embrión, se hicieron cortes finos del mismo con bisturí con el apoyo del estereoscopio marca Zeigen, los cortes se tiñeron con azul de metileno y se visualizaron tanto en el estereoscopio marca Zeigen, como en el microscopio compuesto marca Zeigen. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

4.5.2. Apariencia de la semilla con y sin tratamiento térmico.

El daño se puede apreciar a simple vista, sin embargo, se analizaron las muestras en el estereoscopio marca Zeigen, la evidencia se muestra en la figura 22. La semilla con TT se observa más deshidratada en comparación con la semilla que no recibió TT.

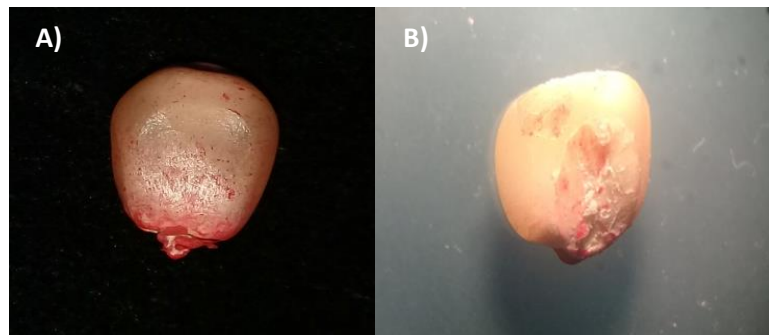


Figura 24.- Muestra la apariencia de las semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” vistas en el estereoscopio marca Zeigen (A) sin tratamiento térmico, (B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días.

4.5.2.1. Apariencia del embrión.

Como se ha comentado el embrión es la única parte viva de la semilla y es de suma importancia conocer el daño causado con y sin tratamiento térmico, como se aprecia en las imágenes de la figura 25. En la imagen denotada con la letra A se aprecia un embrión saludable y húmedo; mientras que, en la imagen denotada con la letra B se observa el embrión dañado con un aspecto deshidratado.

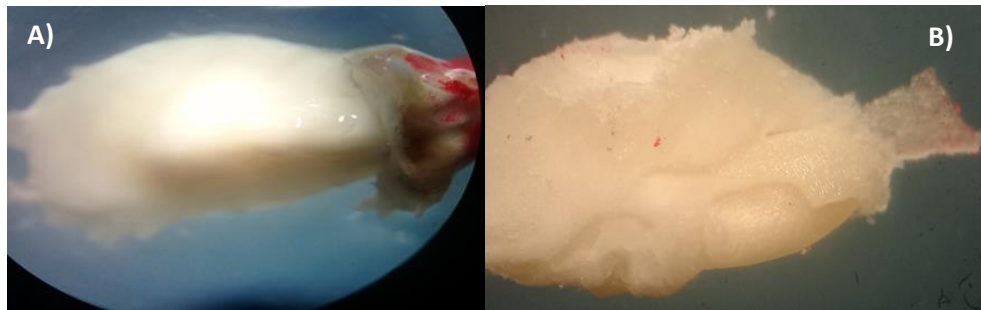


Figura 25.- Muestra la apariencia de los embriones de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” vistas en el estereoscopio marca Zeigen. A) sin tratamiento térmico, B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días.

Después de limpiar los embriones se observaron en el estereoscopio marca Zeigen para diferenciar las partes que conforman el embrión: a) Escutelo que es el órgano encargado de la alimentación del embrión en el momento de su germinación la epidermis abaxial es un epitelio secretor, segrega enzimas que solubilizan las sustancias de reserva, las absorbe y las transporta al embrión; b) Eje embrionario: conformado por una plúmula, que posee de cinco a seis hojas y una radícula ver figura 26.

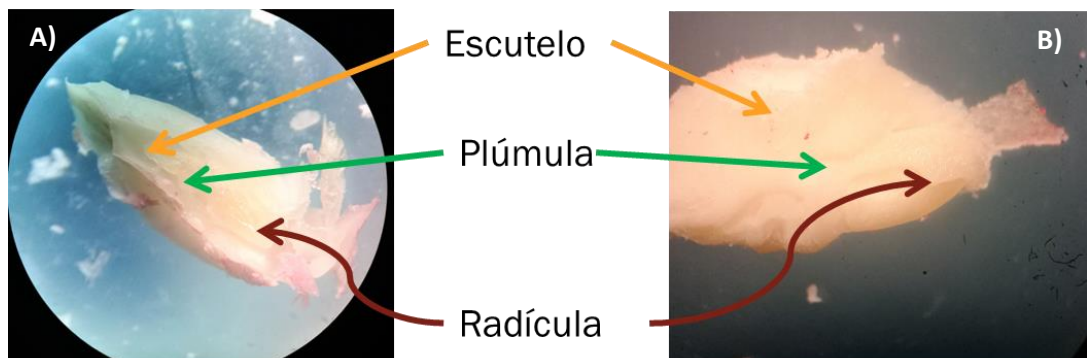


Figura 26.- Muestra las partes que conforman al embrión de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” vistas en el estereoscopio marca Zeigen (A) sin tratamiento térmico, (B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días.

Se hicieron cortes y tinción para cada una de las partes del embrión con el fin de observar y comparar la apariencia de los diferentes tipos de células

que conforman cada tipo de tejido celular para observar al microscopio compuesto y obtener las micrografías como parte de la documentación del daño causado por el envejecimiento acelerado por calor seco.

Se observaron las células que conforman el escutelo, las células de la epidermis del escutelo las cuales se observan alineadas, con una forma ovoide muy pegadas entre sí en la figura 25 se indican con la flecha azul, se puede observar que las células de la epidermis del escutelo en la semilla que sin TT se encuentran ordenadas, alineadas y más juntas entre si ver la figura 27 letra A; mientras que en aquella semilla con TT se notan las células de la epidermis del escutelo más separadas y contraídas, lo cual se atribuye a la deshidratación térmica ver figura 27 letra B. Con respecto a las células propias del escutelo nótese la granulación intracelular como consecuencia de la deshidratación térmica (identificada con el círculo amarillo) ver figura 27 letra B.

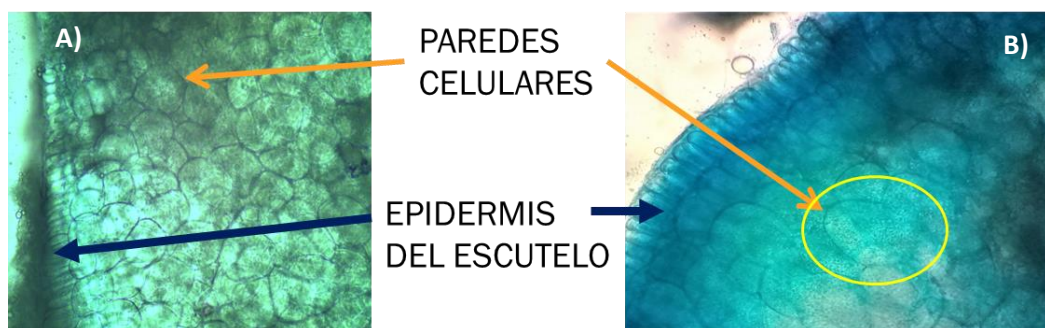


Figura 27. Micrografías tomadas en el microscópico compuesto marca Zeigen a 40 X muestra las células del tejido del escutelo en una semilla de maíz (*Zea mays*) híbrido "Albatros" (A) sin tratamiento térmico, (B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días.

Se observaron las células que forma la radícula, raíz rudimentaria o meristemo apical de la raíz es evidente el daño causado por el tratamiento térmico se observa evidencias de desorganización celular producto de la

deseccación provocada por el tratamiento de envejecimiento acelerado por calor seco ver figura 28.

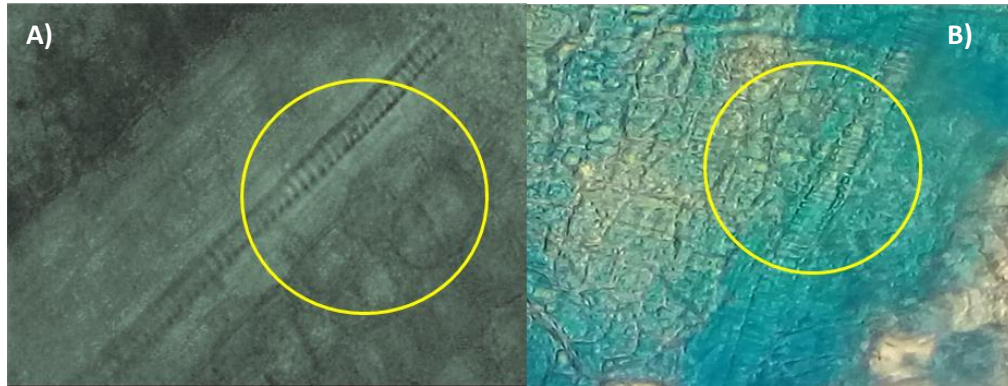


Figura 28. Micrografías tomadas en el microscópico compuesto marca Zeigen a 40 X muestra las células del tejido del escutelo en una semilla de maíz (*Zea mays*) híbrido "Albatros" A) sin tratamiento térmico, B) con tratamiento térmico a 70°C durante 4 días.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



CAPITULO V. CONCLUSIONES FINALES Y RECOMENDACIONES.

En el presente trabajo se ha logrado conocer más a detalle los nanomateriales desde su síntesis, caracterización y sus diferentes aplicaciones, siendo de importancia para este trabajo las aplicaciones en la agrobiología. Es de nuestro interés evaluar el efecto del cambio climático en el vigor y desarrollo de semillas de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” (se considera un híbrido debido a que presenta nula variabilidad genética y es el modelo ideal para medir variables para este estudio), además de evaluar el efecto e interacción de AuNPs y MWCNT con el interés de generar una propuesta para la utilización de nanomateriales en la agrobiotecnología con bases fundamentadas en evidencias claras del comportamiento entre nanomaterial-suelo-semilla-plántula.

El estudio de la interacción de los nanomateriales entre el suelo-semilla-plántula es de suma importancia, abrir nuevas aplicaciones en la agricultura y generar importante información para conocer cómo se relacionan entre éstos, los efectos en cada caso y particularidades, nos llevarán a generar nuevas opciones para mejorar las características de los suelos, recuperación de los mismos y nuevas herramientas para la germinación, desarrollo, mejor y mayor productividad de especies vegetales de importancia alimentaria y económica; que además, nos permita salvaguardar especies en peligro de extinción debido al cambio climático.

La variedad de maíz (*Zea mays*) híbrido “Albatros” demuestra una alta tolerancia al envejecimiento acelerado por calor seco. Los MWCNT ayudan sustancialmente a mejorar la capacidad de tolerancia al calor y recuperación



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



del daño por calor seco en el proceso de germinación y vigor. Las temperaturas utilizadas en este trabajo simulan vagamente los pronósticos de algunos escenarios de calentamiento global, esta variedad de maíz, actualmente conocida y cultivada en el centro de México, puede ser el modelo ideal para estudiar y generar información valiosa en otros escenarios. Finalmente, el restablecimiento asistido por los MWCNT en semillas envejecidas por calor seco parece ser prometedora y abre la posibilidad de generar líneas de investigación novedosas y aplicables.

REFERENCIAS

- Agathokleous, E; Kitao, M; Calabrese, E. J. 2019.** Hormesis: A Compelling Platform for Sophisticated Plant Science. *Trends in Plant Science*, Month Year, Vol. xx, No. yy.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.01.004>
- R. Alshehri, A. Muhammad Ilya, A. Hasan, A. Arnaout, F. Ahmed, A. Memic. 2016.** Carbon nanotubes in biomedical applications: Factors, mechanisms and remedies of toxicity. *J. Medicinal Chemistry*, 59 (18), 8149–8167.
- Almeselmani, M., P.S. Deshmukh, R.K. Sairam, S.R. Kushwaha, and T.P. Singh. 2006.** Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Sci.* 171:382-388.
- Antoniou, C; Savvides, A; Christou, A; Fotopoulos, V. 2016.** Unravelling chemical priming machinery in plants: role of reactive oxygen-nitrogen-sulfur species in abiotic stress tolerance enhancement. *Current Opinion in Plant Biology.* 33: 101-107.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2016.06.020>
- Auffan, M.; J. Rose; J. Y. Bottero; G. V. Lowry; J. P. Jolivet & M. R. Wiesner. 2009.** Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nature Nanotechnology*, 4(10): 634-641.
- AZCÓN-BIETO, J y M. TALÓN, 2013.** FUNDAMENTOS DE FISIOLÓGIA VEGETAL. McGraw-Hill Interamericana de España, S.L. ISBN edición original Publicacions i Edicions de la UB: 978-84-475-3230-8
- Baskin, C.H; (1981).** Acelerated ageing test. In handbook of vigour test methods. International seed testing association (Zurich).
- Boverhof D.R, Bramante C.M, Butala J.H, Clancy S.F, Lafranconi M, West J, et al. Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations. Regulatory Toxicology and Pharmacology 2015; 73(1): 137-150.**



- Calabrese, Edward J and Baldwin Linda. 1999.** Chemical Hormesis: Historical Foundations as a Biological Hypothesis. Toxicologic Pathology, Vol. 27, No. 2, pp 195-216.
- Carter, A.K; Vavrina, CH. S; (2001).** High temperatura inhibits germination of jalapeño and cayenne pepper. Hort. Sci. 36(4):724-725.
- Chandler J, Nardmann J, Werr W. 2008.** Plant development revolves around axes. Trends Plant Sci 13: 78-84.
- Cigales Canga Jesús 2016.** Síntesis y caracterización de nanopartículas de carbono luminiscentes: Carbon Quantum Dots(CQDs). Tesis de Master en ciencias analíticas y bioanalíticas.
- Conde, C., R. M. Ferrer, C. Gay y R. Araujo. 2006.** "Impactos del cambio climático en la Agricultura en México" Cambio Climático: una visión desde México. INE México, D. F.
- Connor E.E., Mwamuka J., Gole A., Murphy C.J., Wyatt M.D. 2005.** Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. Small.1(3):325-327.
- Convención marco de las naciones unidas sobre el cambio climático 1992.**
- De la Torre, A., P., Fajnzylber y J. Nash. 2009.** Low Carbon, High Growth: Latin American Responses to Climate Change. The World Bank Washington D. C. 101 p.
- Deluche, J.C. and C.C. Baskin, 1973.** Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. Seed sci. Technol., 1:127-452.
- Demostables J, Scanlon MJ. 2009.** Maize (*Zea mays*): A model organism for basic applied research in plant bio logy. Cold Spring Harb. Pro toc.10: doi 10.1101/pdb.emo132



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



- De Sousa et al. 2016.** Physical Methods for Seed Invigoration: Advantages and Challenges in Seed Technology. *Frontiers in Plant Science*, doi: 10.3389/fpls.2016.00646
- Durán-Hernández, D; Gutiérrez-Hernández, G. F; Arellano-Vázquez, J. L; García-Ramírez, E. y Virgen-Vargas, Juan. (2011).** Caracterización molecular y germinación de semillas de maíces criollos azules con envejecimiento Acelerado. *Agronomía mesoamericana*. 22(1):11-20
- EPA. Control of Nanoscale Materials under the Toxic Substances Control Act. United States Environmental Protection Agency** [Artículo en internet] [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: <https://www.epa.gov/reviewing-new-chemicals-under-toxic-substances-control-act-tsca/control-nanoscale-materialsunder#NMs>
- FAO. 2006. World Food Summit. Rome Declaration on World Food Security.** ftp://ftp.fao.org/es/ESA/policybriefs/pb_02_es.pdf.
- FDA. Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology. Guidance for Industry, Food and Drug Administration. U.S. Department of Health and Human Services** [Artículo en internet]. Junio de 2014 [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: <https://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm257698.ht>.
- Fu, Q.A., and J.R. Ehleringer. 1989.** Heliotropic leaf movements in common beans controlled by air temperature. *Plant Physiol*. 91:1162-1167
- Gao X, Chan W.C.V., Nie S., 2002.** *Journal of biomedical optics*, 7(4), 532.
- García. F.P. y Villamil. J.M.P., 200.** [Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas](#). Hojas Divulgadoras. Núm. 2112 HD. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 16 pp.



- Gutiérrez-Hernández, G. F; Vázquez-Ramos, J. M; García-Ramírez, E; Franco-Hernández, M. O; Arellano-Vázquez, J. L. y Durán Hernández, D. (2011).** Efecto del envejecimiento artificial de semillas de maíces criollos azules en su germinación y huella genómica. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 34 (2): 77 - 84
- Grzesiak MT. 2009.** Impact of soil compaction on root architecture, leaf water status, gas exchange and growth of maize and triticale seed lings. *Plant Root* 3: 10-16
- Health Canada. Policy Statement on Health Canada’s Working Definition for Nanomaterial. Government of Canada. 2011.** [Artículo de Internet]. [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/science-research/reports-publications/nanomaterial/policystatement-health-canada-working-definition.html>.
- Hochholdinger F, Feix G. 1998.** Early post-embryonic root formation is affected in the maize mutant *lrt1*. *Plant J* 16: 247-255.
- Hochholdinger F, Park WJ, Sauer M, Woll K. 2004.** From weeds to crops: Genetic analysis of root development in cereals. *Trends Plant Sci* 9: 42-48.
- Hochholdinger F, Katrin W, Sauer M, Dembonsk D. 2004 b.** Genetic dissection of root formation in maize (*Zea mays*) reveals root-type specific development programmes. *Ann Bot* 93: 359–368.
- Hochholdinger F, Wen TJ, Zimmermann R, Chimot-Marolle P, da Costa e Silva O, Bruce W, Lam key KR, Wienand U, Schnable PS. 2008.** The maize (*Zea mays* L.) root hair *less3* gene encodes a putative GPI-anchored, monocot-specific, COBRA-like protein that significantly affects grain yield. *Plant J* 54: 888–898.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



- «Investigacion,» de Servicios Tecnicos de Microscopia electronica de transmisión, 2009.
- Iba, K. 2002.** Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 53:225-245.
- ISO. Nanotechnologies. Agosto 2008** - Terminology and definitions for nano-objects -- Nanoparticle, nanofibre and nanoplate - ISO/TS 27687:2008. International Organization for Standardization. [Standard en Internet]. [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: <https://www.iso.org/standard/44278.html>.
- J. Shen, Y. Zhu, X. Yang, C. Li. 2012.** J. Shen, Y. Zhu, X. Yang, C. Li, Graphene quantum dots: emergent nanolights for bioimaging, sensors, catalysis and photovoltaic devices, Chem. Commun.48 (2012) 3686e3699.
- Juárez, B.H. 2011.** Nanopartículas semiconductoras coloidales y aplicaciones. Anales de Química.
- Klarrech E. 2001.** Nature (London). 413, 450.
- Kummar N 2020.** Nuevos bio-nanomateriales para remediación ambiental. tesis para obtener el grado de: Doctorado en ingeniería y ciencias aplicadas.
- Lanone S., Rogerieux F., Geys J., Dupont A., Maillot-Marechal E., Boczkowski J., Lacroix G., Hoet P. 2009.** Comparative toxicity of 24 manufactured nanoparticles in human alveolar epithelial and macrophage cell lines. Part Fibre Toxicol.; 6:14
- L. Li, G. Wu, G. Yang, J. Peng, J. Zhao, J.-J. Zhu. 2013.** Focusing on luminescent graphene quantum dots: current status and future perspectives, Nanoscale 5(2013) 4015e4039.



- Liedgens M, Soldati A, Stamp P, Richner W. 2000.** Root development of maize (*Zea mays* L.) as observed with minirhizotrons in lysimeters. *Crop Sci* 40: 1665–1672.
- Lizarazo-Salcedo C. G, González-Jiménez E. E, Arias-Portela³, Juliana Guarguati-Ariza C. Y (2018).** Nanomateriales: un acercamiento a lo básico. *Med Segur Trab (Internet)* 2018; 64 (251) 109-18.
- López-Bucio J, Cruz-Ramírez A, Herrera-Estrella L. 2003.** The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr Opin Plant Biol* 6: 280-287.
- Maguire, J.D. 1962.** Speed of germination-aid in selection and evaluation for Seedling Emergences and Vigor. *Crop Science* 2:176-177.
- Marcos Filho, J. 2005.** Fisiología de semillas de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ.
- Marcos Filho, J. 2015.** Fisiología de semillas de plantas cultivadas (2 ed.). Londrina: ABRATES.
- Masuda H y Fukuda K., 1995.** “Ordered Metal Nanohole Arrays Made by a Two-Step Replication of Honeycomb Structures of Anodic Alumina”, *Science*, vol. 268, pp. 1466-1468, <https://doi.org/10.1126/science.268.5216.1466> ↑16, 19
- Mittal K.L., Kumar P., 1999.** Handbook of microemulsion science and technology. New York; Marcel Dekker.
- Mittler, R. 2002.** Oxidative stress; antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7:405-410.
- Minagar, S., Berndt, C. C., Wang, J., Ivanova, E., & Wen, C. 2012.** A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces. *Acta Biomaterialia*, 8(8), 2875–2888. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.04.005>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



- Monasterio P, Velásquez L, Alejos G, Lugo L, Maturer W, Tablante J, Rodríguez L, Araujo D. 2007.** Pro puesta para la evaluación fenológica del cultivo de maíz en Venezuela. Ciencia y producción vegetal. INIA Divulga 59-63
- Morales -Casco, L. A., Zúniga-González C.A. 2016.** Impactos del cambio climático en la agricultura y seguridad alimentaria. Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático (Rev. iberoam. bioecon. cambio clim.) Vol. 2 num 1, 2016, pag 269-291ISSN eletrónico 2410-7980.
- Nanomaterials and nanotechnology. Australian Government, Department of Health, national Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS).** Disponible en: <https://www.nicnas.gov.au/chemical-information/Topics-of-interest2/subjects/nanomaterials-nanotechnology>.
- Nard mann J. y W. Werr. 2009.** Patterning of the maize embryo and the perspective of evolutionary developmental biology. P. 105-119. En: Hand book of maize: It's bio logy (J.L Bennetzen y S.C Hake, Eds) Springer, New York.
- Nagesh, R., and V.R. Devaraj. 2008.** High temperature and salt stress response in French bean (*Phaseolus vulgaris*). Aust. J. Crop Sci. 2(2):40-48.
- Nascimento, W.M; Cantliffe, D.J; Huber, D.J. (2000).** Thermotolerance in lettuce sedes: Association with ethylene and endo- β -mannanase. J.Amer.Soc.Hort.Sci.125(4):518-524.
- OECD. Report of the Questionnaire on Regulatory Regimes for Manufactured Nanomaterials 2010-2011.** OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on the Safety of Manufactured



Nanomaterials [Reporte en internet]. Septiembre 2014 [consultado 14 de febrero de 2016]; ENV/JM/MONO28 (42). Disponible en: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=en/jm/mono\(2014\)28&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=en/jm/mono(2014)28&doclanguage=en).

Peinado-Guevara, P. V. 2010. Impacto de los apoyos fiscales para la producción y comercialización del maíz blanco en el Valle de Guasave, Sinaloa, Edición electrónica gratuita. <http://www.eumed.net/libros/2010b/707/>

Paliwal, R. L. 2001 b. Morfología del maíz tropical. En: Paliwal, R. L.; Granados, G.; Lafitte, H. R.; Violic, A. D. y Marathée J. P. (Eds.). El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. pp. 13-19.

Pedroso, D. C., Tunes, L. M., Barbieri, A. P. P., Barros, A. C. S. A., Muniz, M. F. B. y Menezes, V. O. (2010). Envelhecimento acelerado em sementes de trigo. *Ciência Rural*, 40(11), 2389-2392. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/cr/2010nahead/a760cr3738.pdf>

Porch, T.G., and A.E. Hall. 2013. Heat tolerance. In: C. Kole, editor, Genomics and breeding for climate-resilient crops. Vol. 2. Springer-Verlag, Berlin, GER. p. 167-202.

Quero Edgar., Miroslava Lugo Lozano., Esteban Sánchez Rodríguez. CARACTERIZACIÓN ELEMENTAL DE SEMILLA DE MAÍZ (ZEA MAYS SPP.) NATIVO (MEXICANO). Research.

Qin, L.C., 1997. CVD synthesis of carbon nanotubes. *Journal of Materials Science Letters*, vol. 16, pp. 457-459.

Rahman M. A., Hossain M. A. M. and Das B. 2016. Synthesis of TiO₂ nanotube by electrochemical anodization of ti foil in room temperature. *Mechanical Engineering Research Journal*. Vol.10, pp. 90-93.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



- Rajendra Kumar Goyal. 2018.** Nanomaterials and Nanocomposites Synthesis, Properties, Characterization Techniques, and Applications. Taylor & Francis Group, LLC. p.96.
- Reddy Bogireddy Naveen Kumar. 2020.** Nuevos bio-nanomateriales para remediación ambiental. Tesis para obtener el grado de: Doctorado en Ingeniería y Ciencias Aplicadas.
- Savolainen K, Backman U, Brouwer D, Fadeel B, Fernandes T, Kuhlbusch T. Nanosafety in Europe 2015–2025: towards safe and sustainable nanomaterials and nanotechnology innovations.** Finnish Institute of Occupational Health 2013.
- SCENIHR. 2010.** Scientific Basis for the Definition of the Term «nanomaterial». European Commission, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. [Artículo de Internet]. [consultado 14 de febrero de 2016]. Disponible en: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenih_r_o_032.pdf.
- SEMARTAN-INE.2006.** Tercera Comunicación Nacional de México ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático, México.
- Sheridan WF, Clark JK. 1994.** Fertilization and embryogeny in maize. P. 1-10 En: The maize hand book (M. Free ling, V. Walbot, Eds). Springer, New York.
- Singh V., Van Oosterom E. J., Jordan D.R., Messina C.D., Cooper M. y G. L. Hammer. 2010.** Morphological and architectural development of root systems in sorghum and maize. Plant Soil 1-2: 287-299.
- S. Ijima 1991.** Helical microtubes of graphitic carbon. Nature 354, 56–58



- Solorio D. Y., Rodríguez M., Valdez-Calderón A., Ramos-Ortiz G., Torres-Valencia J.M. 2018.** Extractos naturales como materias primas para la fabricación de puntos cuánticos de carbono.
- Suarez-Castellanos, C.I; Souza-Lemes, E; Silva.Almeida, A; Eduardo-Meneghello, G; Madruga de Tunes, L; (2018).** Metodologías para el ensayo de envejecimiento acelerado en semillas de triticale. *Agrociencia Uruguay* 2018 22(2):1-6.
- Sulabha K. Kulkarni. 2015.** Nanotechnology: Principles and Practices. Tercera edición. Pp. 56,
- Schwacke, R., S. Grallath, K.E. Breitkreuz, E. Stransky, H. Stransky, W.B Frommer, and D. Rentscha. 1999.** LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine, and g-amino butyric acid in tomato pollen. *Plant Cell* 11:377-391.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2006.** *Plant physiology*. 4th ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland, MA, USA
- Tiwari DK, Dasgupta-Schubert N, Villaseñor Cendejas LM, VillegasJ, Carreto Montoya L, Borjas SE. 2014.** Interfacing carbon nanotubes with plants: enhancement of growth, water and ionic nutrient uptake in maize (*Zea mays*) and implications for nanoagriculture. *Applied Nanosci.* 4(5), 577-591.
- Tiwari et al. 2017.** Plant responses to nano and micro structured carbon allotropes: Water imbibition by maize seed upon exposure to multiwalled carbon nanotubes and activated carbon. *Adv. Nano Research*, 5(3), 245-251
- Tunes, L. M., Badinelli, P. G., Olivo, F. y Barros, A. C. S. A. (2009).** Teste de envelhecimento acelerado em cevada. *Magistra*, 21(2), 111-119.



- Turkevich J, Stevenson PC, Hillier J.1951.** Nucleation and growth process in the synthesis of colloidal gold. Discuss Faraday Soc 11:55-75
- Turkevich J., y Kim, G. 1970.** Palladium: preparation and catalytic properties of particles of uniform size. Science, 42, 6583.
- Vázquez-Montenegro, R.J., Durán, O., & Baca M. 2014.** Modelos de impacto en la agricultura teniendo en cuenta los escenarios de la agricultura del cambio climático. Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático.
- Vierling, E. 1991.** The role of heat shock proteins in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 42:579-620.
- Wang, W., B. Vinocur, O. Shoseyov, and A. Altman. 2004.** Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. Trends Plant Sci. 9:244-252. Weiss, C. & S. Diabate. 2011. A special issue on nanotoxicology. Arch Toxicol: 705-706.
- Whaid, A; Gelani, S; Ashraf, M; Foolad, M.R. (2007).** Heat tolerance in plants: An overview. Environm. Exp. Botany. 61(3):199-223.
- V. Zwillling, E. Darque-Ceretti, A. Boutry-Forveille, D. David, M. Y. Perrin, M. Aucouturier.1999.** Surf. Interface Anal., 27, 629.
- Z. Zhang, J. Zhang, N. Chen, L. Qu. 2012.** Graphene quantum dots: an emerging material for energy-related applications and beyond, Energy Environ. Sci. 5 8869e8890.

APENDICES
ANEXO 1

PRODUCTOS OBTENIDOS
DE LA TESIS



Applied Nanoscience
<https://doi.org/10.1007/s13204-021-01804-9>

ORIGINAL ARTICLE



Nanomaterial-aided seed regeneration in the global warming scenario: multiwalled carbon nanotubes, gold nanoparticles and heat-aged maize seeds

Magdalena González Alejandre^{1,3} · Vivechana Agarwal¹ · Miguel Martínez Trujillo² · Juan Carlos González Cortes² · Nabanita Dasgupta-Schubert³

Received: 9 December 2020 / Accepted: 15 March 2021
© King Abdulaziz City for Science and Technology 2021

Abstract

Seeds in soil seed-banks count amongst organisms that are the most vulnerable to the extreme temperatures predicted in certain models of global warming. This work aims to examine the possibility of a nanomaterial-aided resuscitation of heat-damaged hybrid maize (*Zea mays* L. "A Ibatross") seeds through a study of their germinability and growth after high heat exposures. Heat energy at constant 'dose' was delivered at the three temperatures of 40, 50 and 60 °C (40–60) and at a much higher dose at 60 °C (+). Seed germinability and seedling growth indices were studied in the presence/absence of multiwalled carbon nanotubes (MWCNT) and our laboratory synthesised and characterised (SEM, DLS, FTIR, UV-Vis) gold nanoparticles (AuNP). Overall, the MWCNT outperformed the AuNP. The seemingly erratic germination outcomes were rationalised from the standpoint of the biomechanics of water entry into seeds with heat-damaged seedcoats. Fickian diffusion calculations applied to the interstitial channels of the seedcoat and cellwall showed that the former but not the latter, was an effective barrier to MWCNT entry and that both easily allowed water entry. The MWCNT treatments appear to catalyse the recovery of the (+) seeds and seedlings, promote biomass and the root-to-shoot water transport, whilst the parabolic biomass trend for 40–60 suggests opposing temperature-regulated factors possibly involving reactive oxygen species. Summarising, growth indices of heat-damaged seeds show a strong non-monotonic dose dependence where the MWCNT significantly altered the response, catalysing the recovery of the high heat 'dose' set. These results hold promise for the application of nano-biotechnology to agriculture in the global warming scenario.

Keywords Carbon nanotubes · Gold nanoparticles · Maize · Heat-ageing · Diffusion · Nano-agriculture

Introduction

According to the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) the Earth's climate is undergoing unprecedented change since the mid-twentieth century with average yearly planetary temperatures trending upwards (Allen et al. 2018). The decade that ended in 2019, saw the highest temperatures on Earth since recorded climatic history (<https://www.climatecentral.org/gallery/graphics/top-10-warmest-years-on-record>). Whilst the impact of planetary warming has deep potential repercussions on a whole host of objects and activities on a global scale, the risks to agriculture stand out as amongst the most immediate and important, because first, plants are sessile organisms and second, because temperatures over land, specifically over agricultural land, rise more quickly and to a higher degree than they do over water (Cline 2008). The decrease in quantity and quality

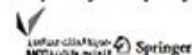
✉ Nabanita Dasgupta-Schubert
nabanita.schubert@umich.mx

¹ Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas (CIICAp), Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, C.P. 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico

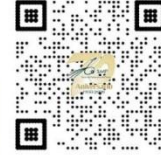
² Facultad de Biología (FB), Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), Ed. R, Cd. Universitaria, Col. Felicitas del Río, C.P. 58060 Morelia, Mexico

³ Facultad de Ciencias Físico Matemáticas (FCFM), Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ed. Alfa, Cd. Universitaria, Col. Felicitas del Río, C.P. 58060 Morelia, Mexico

Published online: 12 April 2021



LXIII Congreso Nacional
de Física
Morelia, Michoacán 2020



FisMat
Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas



LA SOCIEDAD MEXICANA DE FÍSICA

Agradece la participación de:



en el **LXIII Congreso Nacional de Física**

del 5 al 9 de octubre de 2020

MORELIA, MICHOACÁN

EN LINEA



Dr. Tonatiuh Matos Chassin

Presidente de la SMF



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUERRERO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

Av. Lázaro Cárdenas, S/N. Ciudad Universitaria. Chilpancingo, Gro. 39090. Tel/Fax 01(747)4725503

www.uacqb-guerrero.org.mx Correo electrónico : uacqb@yahoo.com.mx



Asunto: Invitación como ponente.

Chilpancingo, Gro. a 2 de septiembre de 2021.

M.C. Magdalena González Alejandre
Centro de Innovación y Desarrollo Agroalimentario de Michoacán
Presente

Apreciable M.C.,

La Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, a través de la Coordinación de la Maestría en Biociencias se dirige a usted de la manera más atenta para informarle que en el interés de contribuir al conocimiento del desarrollo y aplicación de los avances en el campo de las Biociencias, ha organizado el **III Congreso Internacional de Biociencias** que se llevará a cabo del 13 al 15 de Octubre, mismo que se llevará a cabo de manera virtual.

Como parte del programa académico de este evento, me permito hacer la más atenta invitación para participar como ponente de una Conferencia Magistral, misma que se llevará a cabo el día 13 de octubre de 16:00-17:00 horas (50 min de presentación y 10 min de preguntas).

Esta invitación obedece al reconocimiento a su experiencia profesional, interés y compromiso con la ciencia en nuestro país. Agradeciendo su participación en este importante evento, reciba un cordial y afectuoso saludo.

ATENTAMENTE

Dra. Natividad Castro Alarcón
Coordinadora de la Maestría en
Biociencias



Dr. Arturo Ramírez Peralta
Presidente del comité organizador
3er. Congreso Internacional de Biociencias





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



Chilpancingo, Guerrero 1 de octubre de 2021

Asunto: Certificado de aceptación

Estimado participante


Por medio del presente, me permito informarle por parte del comité editorial del 3er Congreso Internacional de Biociencias, que su trabajo de investigación que lleva por título:

Tolerancia del maíz (*Zea mays*) al envejecimiento acelerado por calor seco en un escenario de cambio climático

Siendo los autores: **Magdalena González-Alejandre, Vivechana Agarwa, Miguel Martínez Trujillo, Nabanita Dasgupta-Shubert**

Ha sido **ACEPTADO** para su presentación oral en la mesa **ALIMENTOS** del 3er Congreso Internacional de Biociencias, durante los días 13y 14 de octubre. La duración de su participación será de 20 minutos. En los próximos días, se le enviará los datos de acceso para la sala correspondiente dentro del congreso.

Reciba un cordial saludo


Dr. Arturo Ramírez Peralta
Presidente

3er Congreso Internacional de Biociencias
Chilpancingo, Guerrero, México


Dra. Verónica Irujú Martínez Santos
Comité editorial

3er Congreso Internacional de Biociencias
Chilpancingo, Guerrero, México





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



La maestría en Biociencias de la

Universidad Autónoma de Guerrero



Otorga la presente **CONSTANCIA** a:

M. D. Magdalena González Aguirre

Por su participación como PONENTE con el tema:

Tolerancia del maíz (Zea mays) al envejecimiento acelerado por calor seco en un escenario de cambio climático.

En el III Congreso Internacional de Biociencias

Realizado de forma virtual del 13 al 15 de octubre de 2021

Dr. Arturo Ramírez Peralta

Presidente del comité organizador del
III Congreso Internacional de Biociencias

Dra. Yanely Ramírez

Comité organizador del III Congreso
Internacional de Biociencias



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



La maestría en Biociencias de la

Universidad Autónoma de Guerrero



UAGro



Otorga la presente **CONSTANCIA** a:

Magdalena González Alejandre

Por su participación como ASISTENTE

En el III Congreso Internacional de
Biociencias

Realizado de forma virtual del 13 al 15 de octubre de 2021

Dr. Arturo Ramírez Peralta

Presidente del comité organizador del
III Congreso Internacional de Biociencias

Dra. Yanel Romero Ramírez

Comité organizador del III Congreso
Internacional de Biociencias

Valor curricular: 20 horas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Coordinación de Investigación Científica
Departamento de Comunicación de la Ciencia

Otorgan la presente

CONSTANCIA

Magdalena González Alejandre

Por su participación como:

Colaborador

con el taller:

**RECUPERACIÓN DE SUELOS
DEGRADADOS**

con una duración de 17 horas

En el XXVIII Tíanguis de la Ciencia, realizado
los días 20 y 21 de abril en Ciudad Universitaria
Morelia, Michoacán abril 2018.

Dra. Ireni Suazo-Ortuño
Coordinadora de la Investigación Científica





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



13^o Congreso Estatal de Ciencia y Tecnología e Innovación
7^o Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán



18 y 19 octubre **2018**
Centro de Convenciones y Exposiciones de Morelia

El Gobierno del Estado de Michoacán de Ocampo, a través del Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación del Estado otorgan la presente:

CONSTANCIA

A: Nabanita Dasgupta-Schubert, Salomón Eduardo Borjas García, Vivechana Agarwal, Miguel Martínez Trujillo

Por su coautoría en la "Mesa 1.- Ciencias Naturales y de Materiales", titulada **GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MAÍZ (ZEA MAYS) EXPUESTAS A ENVEJECIMIENTO ACELERADO Y LA INTERACCION CON NANOPARTICULAS**

En el marco de las actividades académicas del 13^o Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el Séptimo Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán.

Morelia, Michoacán a 19 de octubre de 2018.

Dr. José Luis Montañez Espinosa

Director General del Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación del Estado de Michoacán

MÉXICO GOBIERNO DEL ESTADO DE MICHOACÁN

CONACYT

Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación

MICHOACÁN Estado en Ti



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



Sociedad Mexicana de Ciencia
y Tecnología de Superficies y Materiales A.C.

The Conference Organizing Committee certifies that

**Nabanita Dasgupta-Schubert, Padma Sahare, Jorge Rodríguez
Alejandre, Magdalena González Alejandre, Vivechana Agarwal,
Salomon Borjas Garcia**

presented the following poster contribution

521-CHM

**"Matrix and nano substrate enhanced fluorescence yields for
the x-ray fluorescence trace analysis of biomedically
important ions "**

Dr. Gregorio Hernández Cocolletzi
President SMCTSM

International Conference
on Surfaces, Materials
and Vacuum 2018
24 -28 September 2018, Riviera Maya, Mexico



XI



La Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo a través del
Programa Institucional de Licenciatura en Ingeniería Ambiental

Otorga la presente

CONSTANCIA

a

M.C. Magdalena González Alejandre

Por su participación en la conferencia "Biorremediación y Fotorremediación", llevada a cabo el día 6 de mayo de 2019, en el edificio del Multi-DES en Ciudad Universitaria.



Dra. María Luisa España Boquera
Coordinadora General
PILIA - UMSNH



LICENCIATURA EN
INGENIERÍA AMBIENTAL





DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS



Cuernavaca, Morelos, 28 de febrero de 2022.

DR. JUAN CARLOS GARCÍA CASTREJÓN
COORDINADOR DEL POSGRADO EN
INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS
P R E S E N T E

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada: **SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES BIOFÍSICAS DE NANOMATERIALES EN LA NANOAGROBIOTECNOLOGÍA.**, que presenta la alumna **MAGDALENA GONZÁLEZ ALEJANDRE**, para obtener el título de **DOCTORADO EN INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es **APROBATORIO**.

Atentamente
Por una humanidad culta

DR. JOSÉ GONZALO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

DRA. MARIA ELENA NICHÓ DÍAZ

DR. ALBERTO ARMANDO ÁLVAREZ GALLEGOS

DR. MIGUEL MARTÍNEZ TRUJILLO

DR. EDGAR EDUARDO ANTUNEZ CERON

DRA. NABANITA DASGUPTA SCHUBERT

DRA. VIVECHANA AGARWAL

Se adiciona efirma UAEM



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JOSE GONZALO GONZALEZ RODRIGUEZ | Fecha:2022-05-05 14:40:03 | Firmante

mgPAMhnS1xxuNWYht9AGbD88BCM4IVtSVg59f33cTB5I49cib/OAxeWV3wy0ohtsXP8TPen7+6jjmbSDF0LdRskfEgSfCgpnjuNucxJSyVp/BUVURmB0Uw0qA61IV6VL28ft4TFsD9UQILbWNLJLCMH+YjPbJ2yEZ3UYnN+74Y7mPKKhLRd5bCDateBrYsPpmfcgOTSeOHLTYGfRQwLLHjZ2X2f2Xu/NDZNPbmtFo4legnct1fSFZf5cNvcVoDCEI7CwEbRAYSDJiAKIGMRdCPxjeJA23bjqaeN4/KlmRZbi1FpJxmerruSlbmScmcdltqPMMXr7NTLL4iqLw==

VIVECHANA AGARWAL | Fecha:2022-05-06 07:04:40 | Firmante

F36p4SB4f/DqqardTnw2Juk8rEOjVJqc3kTziQckHLSTHkPMTFYKA6CHGPh/KDCfled1ufiso7znaKNvM0i8fjbmhSGsUEqpeXQwrlvBBPFKEPRdYF3NHffwStNdQ47qu+n+nfl7D2S0EJLFI2pybjRQC9pejGyA98nOLZeGOxUYMKzvMzNkFUKGCEyUZaP/veOxUfAOvI94qAmh1eLszS9gcd+JSQ6skcfQvXbYB6drvIxiSbs9uviTIYyX9CKCE88W8dKZG4ePiRTG70hy69z+aMlVcuJvjeu8MMBY8mBvIvdgt/58++2LZ6k99B5h1mC36d5DKHqncTACVg==

ALBERTO ARMANDO ALVAREZ GALLEGOS | Fecha:2022-05-06 12:34:46 | Firmante

Uj71T2DsRbqKAdXVL+Ub30SVmUtGqtSSBh1KtxOpnzD7IdeEOkgJ0keFSiOObMFpLPpPRNnkQuOzu24p7jRa65sel5IHukxT0jk4KakOuXbNGqgvNr/jtnKhpRBUy03cmObEsu9Z0BWx5gcZu10lcthRW5W11Z+Nrzuo8oKUCbAurmUpyKlemAOqG1VYB38Sdd9qY6r6wGjxBwbut1RPJal2mUzz7kcFeYGMjvPrutyP0cMX4/AnSW9Rd0h0iMgANDQGDnkTfsFAfbWrzQvVURzZBrOd/alpVdAqI/LQsS6i2aWcBSf0ESEeHs13Dw91RP/T1NEvZwAFwKMrGYRC3w==

MARIA ELENA NICHU DIAZ | Fecha:2022-05-06 13:52:34 | Firmante

ZNHBF3K/pofReztBzQ1h5YiwiDTNL3LMFN7NjLTZQDyIfRJ5wVRKUmE8WsiDU1bZwrjDIYDh+FBVP4pew88HCQ80mQw5fCVK4CfAvR16Ou5dm6j+2aGnDjmo0u6/FQlkDHO+fUARXs3JKPFb6n1dVoJrukER3bgPGI5RrxXn5lmgS4+nM4Vy5IHKOI5cFCK7+B+WWWZzfygDj63+H0QCcuX7Eit4yqS/ynRisWXF89M9mJnTio6txM2QSO9FqKZaphv4HQGx/q9x7Qd/Ep3ETuxQp0GWin3M4MPCAxGMFZY6PEq7Gx8gEX3KbdWzoRTRK9jJk8BfiUOPIylzjRoFw==

EDGAR EDUARDO ANTUNEZ CERON | Fecha:2022-05-20 13:21:50 | Firmante

UFoMc6ys85LWgjdYXyPrIFvJ+WGgXFGipCi0Wha/oVWqLDFHQD1YzawOk5/2eKSBS383IOSUwpBlvJHO7aAarUM8pVhHuM9zeo1b5hwcG3C8jUxKYWYyqwDe8Pfe1OKhKuG9Qh51aH8d4IEUzrCOeHTYM7Gv/I2Ag9q6QjBLLKwK+hYQbfnYIEmhWeDzpZCKQ29agaUOXQBvSlhTkpOndD26FT2kdtYaQQ327KYA6P7ct7gkjmN9YF11X3P5XsiYMZEdyGxV7Y0filyt+XkEaFcfzfwxRu8QO5miYy3Btcxoc3dTg8Luvk7txJG3/VuOteo/QblMuba53pV9ieA==

MIGUEL MARTINEZ TRUJILLO | Fecha:2022-05-23 18:41:44 | Firmante

tawHHH0EpqoOkZudmbrV0v+ugn09TyEktfTrRfL38lXoiRiZyZn/Rj6so/QN3JlCeOIQHSn7JY4opgHeRkz1HvMsMg7oHKJAKAGBfeDm5KUGVY4wyqz9/BvsE3EdX2TAD8Tj6+afbM6H3oggerNWY7XvYdcbOAG9bMHzXdhOTFFYfM6k3eiDcbTYXZops5kOZxNxcXyROII/WwvIKbym08j3umgnptAnHsi1bVyiLcC45QIBOefnuDfpeK5MNt+8llhiOdpkYJOdriGiz3x1EfaptUFMuxGnsDzjqWoVRKu+ed6uorH4KIZOKqPv8mwxkbyicx6nCrQciEAlw==

NABANITA DASGUPTA SCHUBERT | Fecha:2022-05-23 22:54:33 | Firmante

IUpe9CO90XYNvVR2B7e4qHV61DexJhsz1O46A7Lc7AYRclJdfjHLElnY3HiQYsvYrDg04W9yBdcmQ/O2lc986b0Y9UmoPUyyHa5Ld+FCLRAixLYA8GcCO9T+4jO7aF5Wxx6PzRAghuRYtlc/Ajwd+0daQ+RjvlssnNhXJQL/ESuqWCsEnKL6EUki0yZ5jC9W9QE6ZpFq66VqSPSxwY9818bpno0R6UNpldVzq9NzfiiHqJzRjqlxkjPiFzSKKRSDfml6mpKY+BFT5lhEh0YWxwucgGx3xgV8qe0pwSv4ME7Gu778jiVxQnt7sPpT13jftcZ07EehKWifmwGatHA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



zyjBmFfuA

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/BVQJJnwLPr0ueK7AyNyVfBdV3qcRXUOu>

