

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Comportamiento Fisiológico de la Germinación y Desarrollo de la Plántula de Chile
(*Capsicum annuum*) a la Aplicación de Nanopartículas de Óxido de Zinc

Por:

RODRIGO NÁJERA VELASCO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2022

8

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Comportamiento Fisiológico de la Germinación y Desarrollo de la Plántula de Chile
(*Capsicum annuum*) a la Aplicación de Nanopartículas de Óxido de Zinc

Por:

RODRIGO NÁJERA VELASCO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Norma Angélica Ruíz Torres
Asesor Principal


Dr. Froylán Rincón Sánchez
Coasesor


Dr. Josué Israel García López
Coasesor


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



Saltillo, Coahuila, México.
Febrero, 2022

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



Rodrigo Nájera Velasco

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: por ser mi amigo fiel que nunca me ha abandonado, por haberme acompañado y guiado en los momentos más difíciles de la carrera. Por haberme bendecido con una hermosa familia y haber puesto en mí camino académico a maravillosas personas que me motivaron en todo momento a lograr el objetivo.

A MIS PADRES: Matías Nájera Solórzano y María del Carmen Velasco Espinosa

Sabiendo que nunca terminare de agradecerles una vida llena de sacrificios, para regalarme la oportunidad de estudiar mi carrera universitaria, que sin importar las circunstancias en todo momento conté con su incondicional apoyo.

A MI HERMANO: Raúl Orlando Nájera Velasco

Por ser mi mejor compañero, por nunca abandonarme y siempre estar conmigo en los momentos más difíciles. Por motivarme a siempre dar lo mejor de mí y nunca rendirme.

A MIS HERMANITAS: Laura Gpe. Nájera Velasco y Ana Belén Nájera Velasco

Por ser mi motivación de salir adelante, en cada momento las tuve presente; por haber creído siempre en mí.

A MIS ABUELOS PTERNOS (†): José Nájera Guillen y Mercedes Solórzano Méndez

Por ser mis ángeles que desde el cielo cuidaron de mí, por haberme regalado en vida los mejores consejos que sin duda alguna han influido mucho en mi vida para ser cada vez una mejor persona.

A MIS ABUELOS MATERNOS (†): Fausto Velasco Méndez y Catalina Espinoza Gonzales

Gracias por haber inculcado en mí valores tan importantes como el respeto, responsabilidad, honestidad y el trabajo.

A mis amigos y compañeros gracias por haberme compartido día a día tan bonitas experiencias, de las cuales aprendí mucho. Por haberme apoyado siempre y haberse convertido en una gran familia para mí.

A MI ALMA MATER Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Gracias infinitas por haberme brindado todas las facilidades para hacer de este sueño posible.

A la **Dra. Norma Angélica Ruíz Torres** por haberme dado la oportunidad de trabajar con ella y haberme tenido la paciencia necesaria. Por todos sus consejos, le estaré eternamente agradecido.

A la **Mtra. Martha Elena Ochoa Balderas** por todos sus consejos que me ayudaron a salir adelante, por ser una excelente tutora y estar siempre pendiente de mi transcurso académico.

Al **Dr. Antonio Flores Naveda** por compartirme sus experiencias y por ser un excelente profesor.

A MIS PROFESORES

Gracias por ser maravillosas personas, por compartir muchas de sus experiencias, de las cuales aprendí mucho, por brindarnos todo su conocimiento que con mucho tiempo y sacrificio han obtenido.

DEDICATORIA

A DIOS

Por darme las fuerzas necesarias para cumplir este sueño, por darme la sabiduría y acompañarme siempre de la mano.

A MIS PADRES: Matías Nájera Solórzano María del Carmen Velasco Espinosa

Les dedico este logro porque sin su incondicional apoyo no hubiese sido posible lograrlo, por haberme enseñado que mediante el trabajo y dedicación todo es posible.

A MIS HERMANAS: Laura Gpe. Nájera Velasco y Ana Belén Nájera Velasco

Por ser mi motivación en todo momento, por siempre haber confiado en mí y siempre contar con su incondicional cariño.

A MIS ABUELOS (†)

Este logro se los dedico especialmente a ustedes, aunque no pudieron estar conmigo físicamente en este momento, su recuerdo y todas sus enseñanzas hicieron de esto posible.

TABLA DE CONTENIDO

| | | |
|--------|--|----|
| I. | INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1. | Objetivo..... | 3 |
| 1.2. | Hipótesis..... | 3 |
| II. | REVISIÓN DE LITERATURA..... | 4 |
| 2.1. | Que es la nanotecnología..... | 4 |
| 2.2. | La nanotecnología enfocada a la agricultura..... | 5 |
| 2.3. | Uso de las nanopartículas en semillas..... | 6 |
| 2.4. | Aplicaciones de las nanopartículas metálicas..... | 8 |
| 2.5. | Toxicidad por el uso de nanopartículas..... | 9 |
| III. | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 11 |
| 3.1. | Ubicación del sitio experimental..... | 11 |
| 3.2. | Material biológico..... | 11 |
| 3.3. | Diseño experimental..... | 11 |
| 3.4. | Tipo de nanopartícula..... | 11 |
| 3.5. | Establecimiento del experimento..... | 12 |
| 3.5.1. | Germinación de semillas..... | 12 |
| 3.6. | Evaluación del experimento..... | 13 |
| 3.6.1. | Variables evaluadas..... | 13 |
| 3.6.2. | Metodología para la evaluación de las variables..... | 14 |
| a) | Vigor de germinación..... | 14 |
| b) | Porcentaje de germinación..... | 14 |
| c) | Porcentaje de plántulas anormales..... | 14 |
| d) | Porcentaje de semillas sin germinar..... | 15 |
| e) | Longitud de plúmula y radícula..... | 15 |
| f) | Peso seco de plántulas..... | 15 |
| IV. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 16 |
| V. | CONCLUSIONES..... | 23 |
| VI. | LITERATURA CITADA..... | 25 |
| VII. | ANEXOS..... | 30 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el experimento de germinación de semillas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO..... | 17 |
| Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en el experimento de germinación de semillas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO..... | 21 |
| Cuadro 3. Coeficientes de correlación de Pearson para las variables evaluadas en el experimento de germinación de semillas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO..... | 22 |

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Nanopartículas de óxido de zinc.....4

Figura 2. Diversas aplicaciones de las NPs en la agricultura.....6

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1. Porcentaje de vigor de germinación de semillas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO (ppm)..... | 30 |
| Anexo 2. Porcentaje de germinación de semillas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO (ppm)..... | 30 |
| Anexo 3. Porcentaje de plántulas de alto vigor obtenidas de semillas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO (ppm)..... | 31 |
| Anexo 4. Porcentaje de plántulas de bajo vigor obtenidas de semillas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO (ppm)..... | 31 |
| Anexo 5. Peso seco de plántulas (mg/plántula) obtenidas de semillas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO (ppm)..... | 32 |
| Anexo 6. Longitud de plúmula (cm) de plántulas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) obtenidas de semillas tratadas con NPsZnO..... | 32 |
| Anexo 7. Longitud de radícula (cm) de plántulas de chile (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con NPsZnO..... | 33 |

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de evaluar mediante un experimento el efecto de las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) a diferentes concentraciones en la germinación de semillas, desarrollo de plántulas de chile (*Capsicum annuum*), y acumulación de materia seca. Este trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada en Buenavista a 6 km al sur de Saltillo, Coah. México.

El experimento incluyó siete tratamientos de suspensiones de nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO), a 0, 50, 100, 200, 400, 500, y 1000 ppm, cada tratamiento constó de cuatro repeticiones con 25 semillas cada una.

Se utilizaron cajas de Petri, en las cuales se colocaron 100 semillas de chile por cada caja. En cada caja de Petri se aplicó 5 ml de la suspensión de NPsZnO correspondiente. Con el objetivo de que las NPsZnO tuvieran una buena distribución, las suspensiones antes de ser aplicadas se sometieron a un proceso de sonicación durante quince minutos. Por último las cajas de Petri que contenían las semillas tratadas se depositaron en una cámara de ambiente controlado por 24 horas a una temperatura de 25°C, con una humedad relativa del 50 %.

Una vez terminado el proceso de imbibición, se realizó la siembra entre papel Anchor, con 25 semillas de chile por repetición (taco) en cada tratamiento. Los tacos se colocaron en una bolsa de polietileno, misma que fue situada en un contenedor de plástico dentro de una cámara de germinación marca Thermo Scientific a una temperatura de 25°C, con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, una humedad relativa de 75 %. Se determinaron las siguientes variables: porcentaje de vigor de germinación, porcentaje de germinación, plántulas de alto y de bajo vigor, plántulas anormales y semillas sin germinar. También se determinaron longitudes de plúmula y de radícula en cm, así como peso seco de plántula (mg/plántula).

Los datos se sometieron a un análisis de varianza y a una Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) para la comparación de medias.

De acuerdo con los resultados, las NPsZnO aplicadas en semillas de chile ancho (*Capsicum annuum*,) a diferentes concentraciones durante el proceso de imbibición, promueven un aumento en el porcentaje de plántulas de alto vigor y la longitud de la plúmula.

Palabras clave: nanopartículas, germinación, tratamiento, concentración, vigor, plúmula, óxido de zinc.

I. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología (NT) ha existido desde la antigüedad, y conforme van pasando los años esta va desarrollándose cada vez más a un ritmo acelerado, específicamente a partir de la década de 1980 (Hulla *et al.*, 2015).

Los orígenes de la NT se remontan a 1959, cuando se propuso manipular y fabricar artefactos con la precisión de unos pocos átomos, a pesar de dicho razonamiento, esas ideas estuvieron estancadas y sin desarrollarse por muchos años (Lira *et al.*, 2018).

La NT se orienta a la caracterización, elaboración y aplicación de materiales cuyas dimensiones son muy pequeñas, en rangos de nanómetros (nm) (Yadollahi *et al.*, 2009). Diferentes usos potenciales de la NT en la agricultura han sido causa de un gran interés, dado que esta tecnología mediante diversas estrategias ofrece la posibilidad de mejorar la producción agrícola, al mismo que tiempo que, mediante esta se reducen los costos de producción, el desperdicio de agroquímicos y diversos insumos de energía (Servin y White, 2016). En este sentido, se ha mencionado que algunas partículas metálicas como el Zn, Cu y Fe son capaces de promover el crecimiento de las plantas.

Se ha mencionado que el uso de NPs puede subsanar algunos problemas, como la baja eficiencia de los fertilizantes, la reducción de materia orgánica en el suelo, el cambio climático, la disminución constante de la superficie agrícola, sequías, escases de agua para riego y escases de mano de obra (Dubey y Mailapalli, 2016). A pesar de estas enormes dificultades que enfrentan los investigadores agrícolas, es necesario mantener un crecimiento sostenido para afrontar los desafíos que representa la demanda de alimentos a nivel global (Manimaran, 2015).

Las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) en el sector agrícola son estudiadas por su actividad antimicrobial (Fang *et al.*, 2013; Sabir *et al.*, 2014), y por su potencial como nanofertilizantes, corrigiendo las deficiencias de zinc en las

plantas y promoviendo el crecimiento y desarrollo (Naderi y Shahraki, 2013; Raskar y Laware, 2014; Dimkpa *et al.*, 2015).

En el presente trabajo se estudió la aplicación de diferentes concentraciones de NPs de óxido de zinc (NPsZnO), sobre el proceso de germinación, acumulación temprana de materia seca, y el desarrollo de plántula de chile, para evaluar el efecto causado durante este periodo, y así comprobar si este tipo de nanopartículas (NPsZnO), promueve el crecimiento y desarrollo del cultivo durante sus primeras etapas.

1.1. Objetivo

Evaluar el efecto de las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) a diferentes concentraciones en la germinación de semillas, acumulación de materia seca, y desarrollo de plántulas de chile (*Capsicum annuum*).

1.2. Hipótesis

Hipótesis alterna: La aplicación de nanopartículas de óxido de zinc a semillas, promueve la germinación, la acumulación de materia seca, y el crecimiento de plántulas de chile.

Hipótesis nula: La aplicación de nanopartículas de óxido de zinc a semillas, no promueve la germinación, ni tiene efecto en la acumulación de materia seca, y el crecimiento de plántulas de chile.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Que es la nanotecnología

Srilatha (2011) define el término nanotecnología (NT) como una ciencia, ingeniería y tecnología llevada a cabo en nanoescala. Las nanopartículas (NPs) son todos aquellos materiales cuyas dimensiones se ubican en el rango de 1 a 100 nm (Figura 1), estos materiales actualmente son de mucho interés para su estudio debido a su amplio campo de aplicación en diversos sectores, como por ejemplo el biomédico, biológico, óptico y electrónico (Ball, 2002; Karunaratne, 2007). Walker y Bucher (2009) ya avizoraban el gran potencial que esta emergente tecnología tiene dentro del campo de la agricultura, así como en la tecnología de alimentos.

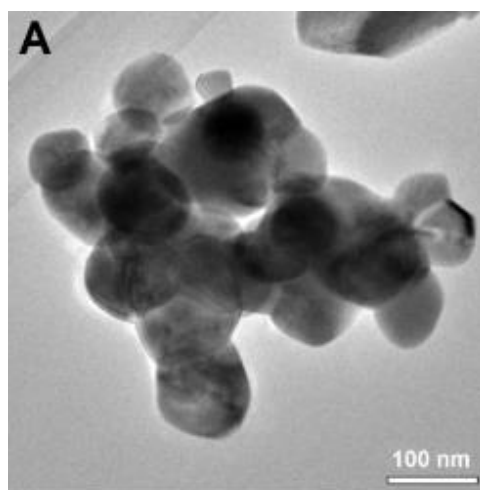


Figura 1. Nanopartículas de óxido de zinc (Méndez, 2016).

La NT proporciona nanomateriales con nuevas propiedades fisicoquímicas, con gran cantidad de aplicaciones en la agricultura. Ofrece la posibilidad de generar nanoproductos como fertilizantes, plaguicidas, sensores y promotores de crecimiento de plantas. Ruiz *et al.* (2016) mencionan que la tendencia es formular productos con ingredientes activos de dimensiones nanométricas, con el objetivo

de que estos materiales sean más eficientes y de fácil disponibilidad, así como también reducir las pérdidas en las aplicaciones de productos utilizados en el sector agrícola. Sin embargo, las aplicaciones de estos materiales pueden provocar toxicidad e interferir en el metabolismo a través de la generación de especie Especies Reactivas de Oxígeno (Tang *et al.*, 2016).

Los principales avances obtenidos de la NT en la agricultura son: encapsulamiento de ingredientes activos como fertilizantes, herbicidas, fungicidas, insecticidas y nutrientes, mismos que se pueden incorporar en matrices de liberación lenta o controlada en materiales naturales como la zeolita (Lateef *et al.*, 2016).

Cota *et al.* (2013) mencionan que mediante estos avances de encapsulamiento de ingredientes activos en NPs, estos aumentan la eficacia de sus ingredientes químicos, dado que se reduce la volatilización, lixiviación, y se puede reducir la toxicidad y la contaminación de los agroecosistemas.

2.2. La nanotecnología enfocada a la agricultura

El amplio campo de aplicación de la NT en la agricultura ha creado un gran interés, ya que esta tecnología ofrece la posibilidad de incrementar los rendimientos de la producción agrícola mediante la utilización de estrategias que pueden mejorar la producción de alimentos, al mismo tiempo que en el proceso de producción se reducen los costos de estos, y menor utilización de insumos de energía, así como también se reducen los desperdicios de agroquímicos (Servin y White, 2016).

Las aplicaciones de la NT en la agricultura son diversas (Figura 2), pero es posible destacar algunas muy importantes como por ejemplo la elaboración de nanopesticidas encapsulados para su liberación controlada (Grillo *et al.*, 2016), para la producción de nano, macro y micronutrientes, así como para hacer más eficiente el uso y aplicaciones de los agroquímicos (Nuruzzaman *et al.*, 2016).

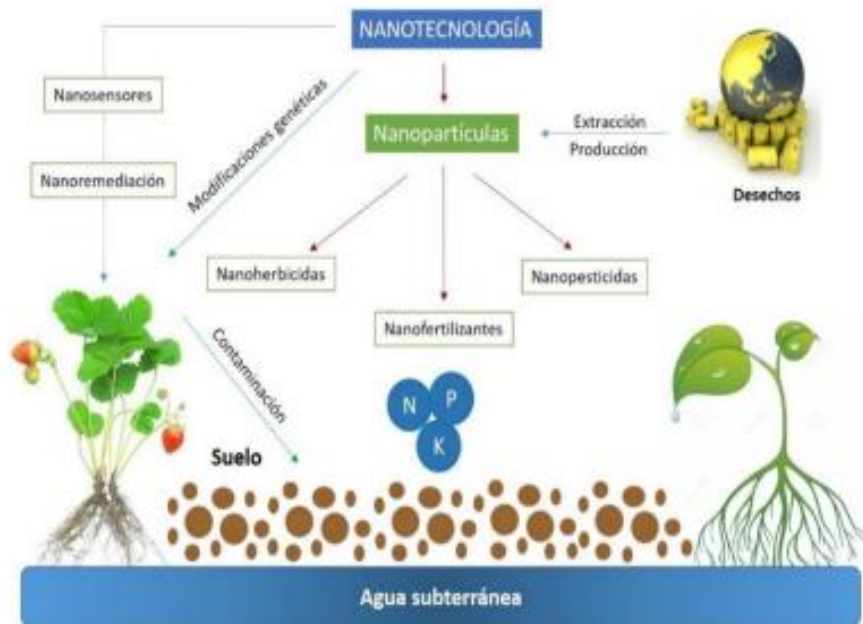


Figura 2. Diversas aplicaciones de las NPs en la agricultura (Fraceto *et al.*, 2016).

Algunos tipos de nanopartículas pueden ser empleadas como nanofertilizantes (Ruiz *et al.*, 2016) y como promotores del crecimiento vegetal, como ya se sabe que la nutrición mineral de las plantas es de primordial importancia para su óptimo desarrollo, algunas empresas en los Estados Unidos están ofreciendo algunos nanofertilizantes como es el caso de la compañía A.M. Leonard, que puso a la venta un producto denominado Florikan, el cual se ha llamado NANO 16-5-11. Esta compañía menciona que, al hacer uso de NANO 16-5-11, se obtendrá 10 veces el número de puntos de contacto, comparado con el fertilizante estándar, además de que este nuevo producto es seguro, eficaz y económico, con una reducción del volumen de fertilización total (A.M-Leonard Company, 2016).

2.3. Uso de las nanopartículas en semillas

Uno de los factores más importantes para lograr un aumento en la producción agrícola, al mismo tiempo que se reduzcan los costos de producción,

es indudablemente logrando el máximo aprovechamiento y selección de las mejores semillas, desarrolladas biotecnológicamente y mediante técnicas genéticas (Shyla y Natarajan, 2014).

La calidad de una buena semilla se basa principalmente en cuatro atributos que son: la calidad genética, la fisiología, la física y la sanitaria (Basra, 1995; Copeland y McDonald, 1995; Marcos-Filho, 1998). Si una semilla cuenta con estos cuatro atributos probablemente el cultivo establecido será saludable y por ende se obtendrá buenos rendimientos.

Amemiya *et al.* (2005) mencionaron que con la nanobiotecnología se podrían diseñar plantas mediante la manipulación de las semillas.

Las NPs pueden ser utilizadas en el manejo de las semillas, con una gran gama de aplicaciones, entre estas se incluyen la imbibición con nanoencapsulaciones de capas específicas, a las cuales se les conoce como “semillas inteligentes”. La NT también ofrece como herramienta la aplicación de NPs, que mejoran la germinación de las semillas y los parámetros fisiológicos relacionados, para optimizar la capacidad de absorción, degradación de reservas y división celular (Chinnamuthu y Boopathi., 2009). El periodo de germinación se acelera debido a la mayor disponibilidad de agua, y el porcentaje de germinación final aumenta, lo cual indica condiciones adecuadas para el crecimiento de las semillas (Hashemi y Mousa, 2013; Ulla y Arshad, 2014). Khodakovskaya *et al.* (2009) mencionan que la clave para el aumento de la tasa de germinación de las semillas es la penetración de nanomateriales en la semilla.

El uso de NPs estimula la germinación en la mayoría de las especies, pero es de suma importancia mencionar que esto dependerá de la concentración y el genotipo (Hatami *et al.*, 2014). Por ejemplo, Prasad *et al.* (2012) mencionan que, en semillas de cacahuete, una concentración de 1000 mg L^{-1} de NPsZnO promueve la germinación, así como la elongación de raíz y tallo. Mientras que Saeid y Hojjat, (2016) indican que la aplicación de NPs de plata no influyó sobre la germinación en semillas de lentejas. Ante todo, el efecto de las NPs en semillas y

plantas puede ser positivo o negativo, esto es promover o inhibir procesos metabólicos.

2.4. Aplicaciones de las nanopartículas metálicas

En este grupo de materiales se encuentran varias NPs metálicas (Zn, Fe, Cu, Ag, etc.), la mayoría de estos materiales aplicados a la agricultura han registrado gran potencial al ser utilizadas como nanofertilizantes (Liu y Lal, 2015; Naderi y Danesh-Shahraki, 2013), nanoherbicidas (Yadav y Srivastava, 2015), nanopesticidas (Dubey y Mailapalli, 2016) y nanosensores (Servin *et al.*, 2015).

Diferentes estudios señalan que la aplicación de algunas NPs metálicas como zinc (Pandey *et al.*, 2010; Prasad *et al.*, 2012) y plata (Salama, 2012), han mostrado algunos efectos significativos en los procesos de germinación de semillas, así como también en el crecimiento de plantas (Burman *et al.*, 2013). Wang *et al.* (2015) mencionan que las NPs en las plantas tendrán un efecto promotor o inhibidor del crecimiento dependiendo de su concentración, tamaño y las propiedades inherentes del elemento involucrado, así como la función fisiológica y bioquímica que desempeña en la planta, y si actúa como micronutriente en el caso zinc, cobre, etc.

Regularmente las NPs de óxido de zinc son utilizadas en diversas áreas y en la actualidad ya se le está enfocando a la agricultura (Chang *et al.*, 2012). Uno de los principales aspectos que ha causado gran interés para su investigación en el sector agrícola es por su actividad antimicrobial (Fang *et al.*, 2013; Sabir, *et al.*, 2014), así como también por su potencial como nanofertilizantes, ya que corrige las deficiencias de zinc en las plantas por lo que estimula el crecimiento y desarrollo (Naderi y Shahraki, 2013; Raskar y Laware, 2014; Dimkpa, *et al.*, 2015).

Algunas investigaciones indican que las NPs ZnO a concentraciones elevadas causan fitotoxicidad e inhiben la germinación (Kyung-Seok, 2014; Zhang, *et al.*, 2015). Por otro lado, Prasad *et al.* (2012) mencionan que con concentraciones bajas se han obtenido efectos significativos en el crecimiento y desarrollo de la planta; por lo que los resultados se reflejan en una mayor biomasa

seca y área foliar. Este efecto promotor se le atribuido al zinc por ser uno de los micronutrientes esenciales para el óptimo desarrollo de la planta (Pandey *et al.*, 2010).

Otras NPs metálicas como las de óxido de cobre (CuO), muestran un efecto positivo sobre la reactividad de fitohormonas, particularmente del ácido indolacético (AIA), así como del ácido salicílico, todo esto permite que se incremente y a su vez se facilite la acción fitoestimulante de las NPs (Wang *et al.*, 2015).

A las NPs de plata (NPsAg) se les atribuyen efectos muy similares a las de las NPsZnO, esto se debe a que las NPsAg en dosis bajas mejoran el proceso de germinación de semillas, y en la promoción del crecimiento en plantas.

Sharma *et al.* (2012) mencionan que las NPsAg promueven el crecimiento de plántulas de mostaza mediante concentraciones bajas, reflejándose en mayor longitud de raíz, biomasa seca y altura. Por otro lado, al aplicarlas a dosis más altas inhibieron la germinación y crecimiento de plantas de haba. Los efectos positivos se le asocian a la producción de endógena de fitohormonas como citoquininas y giberelinas (Dimkpa *et al.*, 2015).

2.5. Toxicidad por el uso de nanopartículas

Aslani (2014) menciona que las causas por las cual las NPs pueden causar nanotoxicidad son en la actualidad desconocidas, pero se cree que las posibles causas están estrechamente relacionadas con el producto químico utilizado, estructura química, composición, tamaño de partícula y el área de superficie.

Brunner *et al.* (2006) mediante una investigación aplicando NPsZnO a semillas de maíz y pepino obtuvieron que al utilizar concentraciones altas; específicamente $1,000 \text{ mg L}^{-1}$ la elongación de la raíz fue afectada, mostrando así nanotoxicidad al utilizar esta dosis.

De igual manera Kaduková *et al.* (2015) indican que las NPs de plata (Ag) inhiben en gran medida la germinación de semillas y afecta el desarrollo de plantas.

Sin embargo, desde el punto de vista toxicológico, el área de la superficie y el tamaño de partícula características importantes de las NPs en su efecto fitotóxico.

Por otro lado, otros autores mencionan que el efecto promotor o inhibidor del crecimiento de las NPs en las plantas no solo está relacionado con la concentración, tamaño y las propiedades inherentes del elemento involucrado, sino que también es muy importante la función fisiológica y bioquímica que desarrolla en la planta, es decir, si actúa como micronutriente como es el caso del zinc, cobre y hierro (Wang *et al.*, 2015).

Begum *et al.* (2011) indican que, al reducir el tamaño de las partículas, el área de la superficie incrementa, lo cual permite una mayor proporción de sus átomos o moléculas estar expuestas, más que en el interior.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del sitio experimental

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), que se localiza en Buenavista a 6 km al sur de la ciudad de Saltillo, Coah. México.

3.2. Material biológico

Para la realización de este trabajo se utilizó semilla de chile criollo ancho (poblano) (*Capsicum annuum*), procedente del Estado de Durango.

3.3. Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar, conformado por siete tratamientos de nanopartículas de zinc (NPsZnO) (0, 50, 100, 200, 400, 500, y 1000 ppm).

3.4. Tipo de nanopartícula

Se utilizó un tipo de nanopartícula de ingeniería tipo redonda, con un tamaño de 20 nm.

3.5. Establecimiento del experimento

3.5.1. Germinación de semillas

Para evaluar los efectos de las diferentes concentraciones de las NPsZnO en la germinación de las semillas de chile, se estableció un ensayo, el cual consistió en siete tratamientos con cuatro repeticiones cada uno.

Para proceder a la imbibición de las semillas, primeramente, se tuvieron que revisar las Reglas de la ISTA (2010), para que esto se realizará de una manera correcta.

En primer lugar, mediante la utilización de alcohol y algodón se desinfectaron las cajas de Petri que se iban a utilizar, todo esto con el propósito de eliminar posibles patógenos que se pudieran encontrar en estas cajas.

Después con el propósito de aplicar las suspensiones a las semillas, con la ayuda de unas pinzas estériles, se colocaron cien semillas de chile en cada una de las cajas de Petri. En su totalidad fueron siete cajas de Petri, que corresponden a los siete tratamientos.

Es importante mencionar que cada suspensión antes de su aplicación fue sometida a un proceso de sonicación durante un periodo de quince minutos, todo esto para tener una buena distribución de las NPsZnO, para lo cual se utilizó un sonicador marca Autoscience modelo AS2060B Ultrasonic Cleaner. Posteriormente con la ayuda de una micropipeta se aplicaron 5 ml de las soluciones a cada una de las cajas de Petri, según el tratamiento correspondiente. Enseguida las cajas de Petri con las semillas tratadas se colocaron en una cámara de ambiente controlado marca Thermo Scientific por 24 horas, a una temperatura de 25°C, con una humedad relativa del 50 %.

Una vez concluidas las 24 horas del proceso de imbibición, se realizó la siembra de las semillas de chile, entre papel Anchor. Antes de realizar la siembra se usó alcohol para desinfectar las manos, así como también se desinfectaron las pinzas a utilizar, con la finalidad de eliminar todos los patógenos que se pudieran

encontrar en estas y así evitar una posible contaminación en el experimento. El procedimiento que se siguió para la siembra fue el siguiente: primeramente, a una charola se le agregó agua destilada para humedecer en ella el papel Anchor, una vez que este estaba húmedo se colocaron 25 semillas de chile en forma de línea horizontal, después de realizar la siembra se cubrieron las semillas con otra hoja de papel, también humedecida. Para concluir este paso se enrollaron las hojas en forma de “taco” y así mismo este se rotuló, anotando el tratamiento, el cultivo, la fecha y el número de repetición. Todo este procedimiento se repitió para las cuatro repeticiones de los siete tratamientos.

Finalmente, los cuatro tacos pertenecientes a las cuatro repeticiones de cada tratamiento se colocaron en una bolsa de polietileno y así sucesivamente hasta tener completas todas las repeticiones de los siete tratamientos. Cada bolsa de polietileno contenía un tratamiento, por lo cual en su totalidad se tenían siete bolsas, mismas que fueron depositadas en un contenedor de plástico profundo, que se metió a una cámara de germinación marca Thermo Scientific, a una temperatura de 25 °C, con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, una humedad relativa de 75 %.

3.6. Evaluación del experimento

3.6.1. Variables evaluadas

Se determinó el porcentaje de vigor de germinación (%), el porcentaje de germinación (%), plántulas de alto vigor (%), plántulas de bajo vigor (%), porcentaje de plántulas anormales (%), porcentaje de semillas sin germinar (%), longitudes de plúmula y de radícula (cm), y peso seco de plántulas (g).

3.6.2. Metodología para la evaluación de las variables

a) Vigor de germinación

La determinación de esta variable se realizó a los siete días después de la siembra, consistió en contar las plántulas normales, es decir, aquellas que tenían la raíz y el tallo desarrollado, y cada una de estas su tamaño fuera por lo menos dos veces el de la longitud de la semilla, y por medio de esta evaluación fue posible determinar el vigor de la germinación.

b) Porciento de germinación

A los 14 días después de la siembra se realizó un segundo conteo con la finalidad de estimar el porciento de germinación, todo esto siguiendo estrictamente las reglas establecidas por el ISTA (2010). Para esta evaluación se llevó a cabo un conteo para conocer el número de plántulas normales (de alto y de bajo vigor), plántulas anormales, así como también del número de semillas sin germinar. Cabe mencionar que el dato que se utilizó para estimar el porciento de germinación fue únicamente el número de plántulas normales.

c) Porciento de plántulas anormales

Para la evaluación de esta variable se consideraron como plántulas anormales aquellas que no presentaron un buen desarrollo, como, por ejemplo: la raíz primaria irregular, es decir, si estaba dañada o sin desarrollo alguno. También se tomó en cuenta que la longitud de radícula y de vástago fueran dos veces superior a la longitud de la semilla, en caso contrario se consideraron como plántulas anormales.

d) Porcentaje de semillas sin germinar

Se realizó un conteo de todas las semillas que no lograron germinar por diversos motivos.

e) Longitud de plúmula y de radícula

Para determinar la longitud de plúmula y de radícula se utilizó una regla plástica con hoja milimétrica graduada en centímetros, la evaluación consistió en medir desde el cuello de la plántula hasta la yema apical de la misma, para el caso de la longitud de plúmula. Para el caso de la longitud de la radícula se midió desde el cuello de la planta hasta el ápice de la raíz primaria, los resultados se expresaron en centímetros.

f) Peso seco de plántulas

Esta fue la última de las variables evaluadas. Inicialmente, se introdujeron todas las plántulas normales de cada repetición dentro de bolsas de papel de estraza y se llevaron a una estufa de secado por un periodo de 24 horas a una temperatura de 72°C. Una vez cumplido este periodo se sacaron las bolsas de la estufa, para que posteriormente se introdujeran a un desecador por 10 minutos con el objetivo de evitar que adquirieran humedad. Finalmente se pesaron todas las muestras de plántulas normales para así obtener el peso seco. Los resultados se expresaron en miligramos/plántula.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los cuadrados medios del análisis de varianza (Cuadro1), de las variables evaluadas en el experimento de germinación de semillas de chile (*Capsicum annuum*), tratadas con diferentes concentraciones de NPsZnO, bajo un diseño completamente al azar.

Los resultados mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) para las variables porcentaje de vigor de germinación, germinación, plántulas de alto vigor (PAV), plántulas de bajo vigor (PBV), plántulas anormales (PA), longitud de plúmula (LP) y longitud de radícula (LR).

Por otro lado, las variables semillas sin germinar (SSG) y peso seco de plántula (PSP), no presentaron diferencias estadísticas.

Tomando en cuenta las diferencias significativas detectadas en algunas de las variables en el análisis de varianza, se entrevé que la aplicación de tratamientos con NPsZnO, durante el proceso de imbibición de las semillas de tomate, genera una respuesta diferencial, mostrando que estas tienen la capacidad de absorber las NPsZnO, y expresar variación en el vigor y crecimiento de plántulas (Cuadro 1).

En el Cuadro 2 se presenta la comparación de medias por tratamiento, en semillas y plántulas de chile, indicando que el uso de NPsZnO provoca alteración en el proceso fisiológico para las variables vigor de germinación, germinación, plántulas de alto vigor (PAV), plántulas de bajo vigor (PBV), plántulas anormales (PA), longitud de plúmula (LP) y longitud de radícula (LR), ya que estadísticamente los tratamientos promovieron respuestas diferentes.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el experimento de germinación de semillas de chile (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsZnO.

| FV | GL | Vigor (%) | Germinación (%) | PAV (%) | PBV (%) | PA (%) | SSG (%) | PSP (mg/p) | GL | LP (cm) | LR (c) |
|--------------------|-----------|------------------|------------------------|----------------|----------------|---------------|----------------------|----------------------|-----------|----------------|---------------|
| Tratamiento | 6 | 612.57** | 333.90** | 2279.61** | 2067.80** | 118.66** | 108.57 _{NS} | 0.0745 _{NS} | 6 | 8.28** | 18.26** |
| Error | 21 | 108.95 | 60.57 | 224.76 | 199.61 | 21.90 | 48.95 | 0.0399 | 603 | 1.18 | 3.30 |
| CV | (%) | 20.4 | 8.9 | 31.4 | 35.8 | 66.8 | 119.45 | 7.5307 | (%) | 35.1 | 19.9 |

FV= Fuente de variación; GL= Grados libertad; Germinación=Plántulas normales en el segundo conteo; Vigor=Plántulas normales en el primer conteo (vigor de germinación); PAV= Plántulas de alto vigor; PBV= Plántulas de bajo vigor; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PSP= Peso seco de plántula; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; Error= Error experimental; CV= Coeficiente de variación; NS= Diferencias no significativas; * =Diferencias significativas (P≤0.05). ** = Diferencias significativas (P≤0.01).

Para la variable porcentaje de vigor de germinación (Cuadro 2), los resultados obtenidos del análisis de varianza mostraron diferencias significativas entre tratamientos, la concentración de 400 ppm fue la que obtuvo el porcentaje más alto, con 73 %. En contraparte, la concentración que presentó el menor porcentaje de vigor de germinación fue la de 200 ppm, dando un resultado de 36 %. Mientras que la concentración de 50 ppm mostró un valor ligeramente menor (50 %), al valor medio (51 %) (Anexo 1).

La variable porcentaje de germinación también presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, siendo la concentración de 200 ppm la que mostró mayor germinación con un 98 %, pero estadísticamente igual al testigo, lo cual resultó inesperado, ya que con 50 ppm se observó un descenso en esta variable, en la que se obtuvo el menor porcentaje (74 %). A diferencia de los tratamientos ya mencionados, las concentraciones 100, 400 y 1000 ppm mostraron un valor medio, y estadísticamente igual a las demás concentraciones (Anexo 2). En contraste, Prasad *et al.* (2012) publicó que, en semillas de cacahuate, tratadas con 1000 mg L^{-1} de NPsZnO se promovió la germinación.

Al realizar la prueba de medias para conocer el comportamiento de las concentraciones evaluadas con respecto al porcentaje de plántulas de alto vigor, cuyos resultados se indican el Cuadro 2, se observó que el mejor efecto lo obtuvo la concentración a 100 ppm con un 82 %, a diferencia del tratamiento a 500 ppm, que resultó ser el de menor con un 23%. Los tratamientos con 100, 400 y 1000 ppm, resultaron estadísticamente iguales con 82, 75 y 55 % de PAV (Anexo 3), posiblemente por tratarse de un genotipo criollo.

Por otra parte, la comparación de medias para la variable plántulas de bajo vigor (PBV) (Cuadro 2), presentó diferencias altamente significativas entre tratamientos, teniendo la concentración testigo (0 ppm), el mayor porcentaje de plántulas de bajo vigor, aunque la concentración que presentó el menor porcentaje de plántulas de bajo vigor fue la de 100 ppm con un 7% (Anexo 4), realmente lo deseado en esta variable es que se obtengan más plántulas con alto vigor y menos con bajo vigor, al tratar las semillas con las NPsZnO.

Para la variable plántulas anormales (PA), se presentaron diferencias ($P \leq 0.05$) significativas entre tratamientos, como se observa en el Cuadro 2, se crearon 2 grupos estadísticos (a y b), dentro del primer grupo con un mayor porcentaje está la concentración de 50 ppm con un 18%, mientras que en el segundo grupo con el menor porcentaje está la de 200 ppm con un 2%. En esta variable, es importante obtener un porcentaje bajo, ya que las plántulas anormales presentan defectos, siendo estas plántulas dañadas, con fisuras o sin raíz primaria, plántulas deformes con desarrollo muy débil. Estas plántulas no tienen un desarrollo adecuado en condiciones de campo, y pueden no llegar a producción. En cuanto a la variable semillas sin germinar, en todos los tratamientos se obtuvieron porcentajes estadísticamente iguales.

La variable peso seco de plúmula, mostró resultados estadísticamente iguales, en un rango de 2.46 (100 ppm) a 2.81 mg/plántula (50 ppm).

La comparación de medias para la variable longitud de plúmula se presenta en el Cuadro 2, donde se observan diferencias significativas entre tratamientos. La concentración de 1000 ppm fue la que presentó mayor longitud con 3.36 cm, y la de menor longitud se obtuvo en el testigo (0 ppm) con 2.56 cm. En esta variable, sí se observó efecto positivo al tratar las semillas, con 1000 ppm, ya que el Zn^{++} es indispensable para que ocurra la fotosíntesis, y se lleve a cabo el metabolismo de los carbohidratos en las plantas. El Zn^{++} ayuda a mantener la estructura de la enzima ribulosa bifosfato carboxilasa/oxigenasa, mejor conocida como Rubisco, la cual es responsable de la fijación del carbono atmosférico por las plantas. El Zn^{++} también es necesario para mantener activos tanto al fotosistema II, encargado de captar la luz durante el proceso de fotosíntesis, como a la enzima anhidrasa carbónica, involucrada en la hidratación del dióxido de carbono en las plantas (Amezcuca y Lara, 2017).

La variable longitud de radícula (cm), presentó diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 2). Con 1000 ppm de NPsZnO se obtuvo mayor longitud con 9.51 cm, después los que estadísticamente presentaron un valor similar, 50 y 400 ppm con 8.85 y 8.90 cm, respectivamente. Por último, el

tratamiento con menor longitud de radícula la concentración de 500 ppm, con 8.20 cm (Anexo 7). En un estudio realizado por Brunner *et al.* (2006), aplicando NPsZnO a semillas de maíz y pepino, observaron que al utilizar concentraciones altas (1,000 mg L⁻¹), la elongación de la raíz fue afectada negativamente, mostrando toxicidad, resultado contrastante al obtenido en este trabajo de investigación.

Por otra parte, Prasad *et al.* (2012) usando NPsZnO obtuvieron con bajas concentraciones efectos significativos en el crecimiento y desarrollo de la planta; mayor biomasa seca y área foliar. Atribuyendo el efecto promotor al zinc, por ser un micronutriente esencial para el desarrollo de la planta (Pandey *et al.*, 2010). Se sabe que el Zn es importante para la síntesis del ácido indolacético (AIA), que se requiere para el crecimiento y elongación celular. La elongación de los brotes y la expansión de las hojas están reguladas por auxinas. La reducción en el crecimiento de las plantas es resultado de deficiencias de Zn.

Con relación al uso de las NPsZnO, Wang *et al.* (2015) concluyeron que las NPs en las plantas pueden tener un efecto promotor o inhibidor del crecimiento, lo cual se pudo constatar en este trabajo, ya que se observaron diferencias entre concentraciones.

Para determinar la relación entre variables, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson (Cuadro 3). Para la variable germinación el coeficiente de correlación mostró una correlación positiva y significativa con la variable longitud de radícula ($r=0.47303^{**}$) y una correlación negativa significativa con las variables porcentaje de plántulas anormales (-0.70638^{**}) y con porcentaje de semillas sin germinar (-0.80645^{**}).

Correlación positiva significativa se observó entre plántulas de alto vigor y longitud de radícula (0.48710^{**}), y una correlación negativa significativa con plántulas de bajo vigor (-0.90761^{**}).

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en el experimento de germinación de semillas de chile (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsZnO.

| Tratamiento (ppm) | Vigor (%) | Germinación (%) | PAV (%) | PBV (%) | PA (%) | SSG (%) | PSP (mg/p) | LP (cm) | LR (cm) |
|-------------------|-----------|-----------------|---------|---------|--------|---------|------------|---------|---------|
| 0 | 62 ab | 96 a | 26 c | 70 a | 4 b | 0 a | 2.65 a | 2.56 c | 9.50 a |
| 50 | 50 abc | 74 b | 29 c | 45 abc | 18 a | 8 a | 2.81 a | 3.17 ab | 8.85 ab |
| 100 | 45 bc | 89 ab | 82 a | 7 d | 4 b | 7 a | 2.46 a | 2.87 bc | 9.42 a |
| 200 | 36 c | 98 a | 44 bc | 54 ab | 2 b | 0 a | 2.78 a | 3.05 ab | 9.10 a |
| 400 | 73 a | 88 ab | 55 abc | 33 bcd | 8 ab | 4 a | 2.61 a | 3.35 ab | 8.90 ab |
| 500 | 47 bc | 76 b | 23 c | 53 ab | 9 ab | 15 a | 2.49 a | 3.35 ab | 8.20 b |
| 1000 | 45 bc | 89 ab | 75 ab | 14 cd | 4 b | 7 a | 2.75 a | 3.36 a | 9.51 a |
| Media | 51 | 87 | 47 | 39 | 7 | 5 | 2.65 | 3.09 | 9.10 |
| Tukey (P<0.05) | 23.993 | 17.89 | 34.462 | 32.477 | 10.758 | 16.083 | 0.4595 | 0.4898 | 0.8183 |

Medias con la misma literal son estadísticamente iguales, Tukey ($P \leq 0.05$); ppm= partes por millón; Germinación= plántulas normales en el segundo conteo; Vigor=plántulas normales en el primer conteo; PAV= Plántulas de alto vigor; PBV= Plántulas de bajo vigor; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PSP= Peso seco de plántula; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula

Cuadro 3. Coeficientes de correlación de Pearson para las variables evaluadas en el experimento de germinación de semillas de chile (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsZnO.

| Variables | Vigor (%) | Germinación (%) | PAV (%) | PBV (%) | PA (%) | SSG (%) | PSP (mg/p) | LP (cm) | LR (cm) |
|------------------------|-----------|-----------------|----------|------------|------------|------------|------------|----------|-----------|
| Vigor (%) | | 0.08947 | -0.01440 | 0.05491 | 0.05491 | -0.18815 | -0.16612 | 0.07696 | 0.05508 |
| Germinación (%) | | | 0.32684 | 0.10013 | -0.70638** | -0.80645** | 0.22777 | -0.37072 | 0.47303** |
| PAV (%) | | | | -0.90761** | -0.36352 | -0.15276 | 0.02422 | 0.08913 | 0.48710** |
| PBV (%) | | | | | 0.06892 | -0.19741 | 0.07569 | -0.25851 | -0.30269 |
| PA (%) | | | | | | 0.15111 | -0.17192 | 0.33712 | -0.31322 |
| SSG (%) | | | | | | | -0.17448 | 0.23610 | -0.39896* |
| PSP (mg/p) | | | | | | | | -0.01301 | 0.34240 |
| LP (cm) | | | | | | | | | -0.22513 |

Vigor= plántulas normales en el primer conteo (vigor de germinación); Germinación= plántulas normales en el segundo conteo; PAV= plántulas de alto vigor; PBV= plántulas de bajo vigor; PA= plántulas anormales; SSG= semillas sin germinar; PSP= peso seco de plántula; LP= longitud de plúmula; LR= longitud de radícula; * = significativa P≤ 0.05; ** = Significativa P≤0.01.

El resto de las variables no mostraron correlación significativa importante. Los coeficientes de correlación son transcendentales porque predicen el comportamiento lineal de dos variables, y en este trabajo las correlaciones positivas se dieron entre variables relacionadas con el vigor de la semilla y de la plántula.

V. CONCLUSIONES

Las NPsZnO aplicadas en diferentes concentraciones a semillas de chile ancho (*Capsicum annuum*), durante el proceso de imbibición, promueven un aumento en el porcentaje de plántulas de alto vigor y en la longitud de la plúmula.

La variable longitud de plúmula presentó respuesta positiva a la aplicación de NPsZnO a 1000 ppm.

La variación en respuestas fisiológicas se puede atribuir también a la constitución genética de la semilla, por ser una variedad criolla.

En general se observó que las NPsZnO aplicadas a semilla de chile criollo, tienen efecto principalmente en variables relacionadas con el vigor de la plántula, ya que el Zn^{++} se requiere para el crecimiento y elongación celular, la elongación de los brotes y la expansión de las hojas.

VI. LITERATURA CITADA

Amemiya, Y., Tanaka, T., Yoza, B. and Matsunaga, T. 2005. Novel detection system for biomolecules using nano-sized bacterial magnetic particles and magnetic force microscopy. *Journal of biotechnology*. 120: 308-314.

Amezcu Romero, J.C. y Lara Flores, M. 2017. El zinc en las plantas. *Ciencia*. Vol. 68:3 pp. 28-35.

Ball, P. 2002. Natural strategies for the molecular engineer. *Nanotechnology*. pp. 15-20.

Brunner, T.J., P. Wick, P. Spohn, P. Grass and R.N. Limbach. 2006. In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.* 40:4374-4381.

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

Dubey, A. and Mailapalli, D.R. 2016. Nonfertilizers, nanopesticides, nanosensors of pest and nanotoxicity in agriculture. In *Sustainable Agriculture Reviews*. Springer International Publishing. pp. 307-330.

Fang, T., Watson, J.L., Goodman, J., Dimkpa, C.O., Martineau, N., McLean, S.J., Britt, D.W. and Anderson, A.J. 2013. Does doping with aluminum alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil *Pseudomonads*? *Microbiological Research*. 168: 91-98.

Grillo, R., Pereira, A.E., Nishisaka, C.S., de Lima, R., Oehlke, K., Greiner, R., Fraceto, L.F. 2014. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: an environmentally safer alternative for weed control. *Journal of hazardous materials*. 278:163-171.

Hashemi, E. and Mosavi, M. 2013. Effect of anatase nanoparticles (TiO₂) on parsley seed germination (*Petroselinum crispum*) In vitro. *Biol Trace Elem Res.* 155(2):283-6. doi: 10.1007/s12011-013-9788-3

Hatami, M., M. Ghorbanpour and H. Salehiarjomand. 2014. Nano-anatase TiO₂ modulates the germination behavior and seedling vigourity of some commercially important medicinal and aromatic plants. *J. Biol. Environ. Sci.* 8(22): 53- 59

Hulla, J., Sahu, S., and Haves, A. 2015. Nanotechnology history and future. *Human y Experimental Toxicology*, 34(12), pp. 1318-1321.

ISTA (International Seed Testing Association). 2010. Rules for the International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, Switzerland.

Kaduková, J., O. Velgosová, A. Mražíková, R. Marcinčáková and E. Tkáčová. 2015. Assessment of biologically synthesized Ag nanoparticles toxicity against *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Parachlorella kessleri* and *Sinapis alba*. *Nova Biotechnologica et Chimica* 14(1):69-77.

Karunaratne, D.N. 2007. Nanotechnology in medicine. *Journal of Natural Science.* 35(3): 149-152.

Kyung-Seok, K.S., and Kong, I.C. 2014. Toxic effects of nanoparticles on bioluminescence activity, seed germination, and gene mutation. *Applied Microbiology and Botechnology.* 98: 3295-3303.

Lira Saldívar, R. H., Méndez Argüello, B., De los Santos Villareal, G., and Vera Reyes, I. 2018. Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28 (2), 9-24. doi: 10.15174/au.2018.1575

Liu, R. and Lal, R. 2015. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the Total Environment*, 514: 131-139.

Manimaran, M. 2015. A review on nanotechnology and its implications in agriculture and food industry. *Asian Journal of Plant Science and Research.* 5:13-15.

Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L.A., Puente-Urbina B.A. y Lira-Saldivar, R.H. 2016. Promoción del crecimiento en

plantas de *Capsicum annum* por nanopartículas de óxido de zinc. Nova Scientia, 8(2), 140-156.

Naderi, M.R. and Shahraki, D.A. 2013. Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. Sci. 5:2229-2232.

Nuruzzaman, M., Rahman, M.M., Liu, Y., and Naidu, R. 2016. Nanoencapsulation, Nano-Guard for Pesticides: A New Window for Safe Application. Journal of agricultural and food chemistry. 64: 1447-1483.

Pandey, A.C., Sanjay, S.S. and Yadav, R.S. 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. Journal of Experimental Nanoscience, 5: 488-497.

Prasad, T.N., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K.R. and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth, and yield of peanut. Journal of Plant Nutrition, 35:905-927.

Raskar, S.V. and Laware, S.L. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. International Journal Current Microbiology Applied Science. 3:467-473.

Ruiz Torres, N.A., García López J.I., Lira Saldivar R.H., Vera Reyes I., y Méndez Argüello B. 2016. Efecto de Nanopartículas Metálicas y Derivadas del Carbón en la Fisiología de Semillas. In R. H. Lira Saldívar, & B. Méndez Argüello, Agronano Tecnología Nueva frontera de la Revolución Verde. Saltillo, Coah. UAAAN. pp. 42-60.

Sabir, S., Arshad, M. and Chaudhari, S.K. 2014. Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: Synthesis and applications. The Scientific World Journal. 1:1-8.

Saeid, S. and Hojjat, H. 2016. Effects of silver nanoparticle exposure on germination of Lentil (*Lens culinaris* Medik.). International Journal of Farming and Allied Sciences 5(3):248-252.

Salama, H. M. 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). International Research Journal of Biotechnology, 3: 190-197.

Servin, A., Elmer, W., Mukherjee, A., De la Torre-Roche, R., Hamdi, H., White, J.C. y Dimkpa, C. 2015. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. Journal of Nanoparticle Research, 17: 1-21.

Servin, A.D. y White, J.C. 2016. Nanotechnology in Agriculture: Next Steps for Understanding Engineered Nanoparticle Exposure and Risk. Nano Impact. 1: 9-12.

Sharma, P., Deepesh, B., Zaidi, M.G.H., Pardha, P., Khanna, P.K. and Sandeep, A. 2012. Silver nanoparticle mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. Applied biochemistry and biotechnology. 167: 2225-2233.

Shyla, K. K. and Natarajan, N. 2014. Customizing zinc oxide, silver, and titanium dioxide nanoparticles for enhancing groundnut seed quality. Indian Journal of Science and Technology, 7: 1376-1381.

Srilatha, B. 2011. Nanotechnology in Agriculture. Journal Nanomedic Nanotechnology. Vol. 2. pp. 123-128.

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

Walker N. and Bucher J. 2009. A 21st Century Paradigm for Evaluating the Health Hazards of Nanoscale Materials. Toxicological Sciences. 110(2): 250-251. DOI: 10.1093/toxsci/kfp106

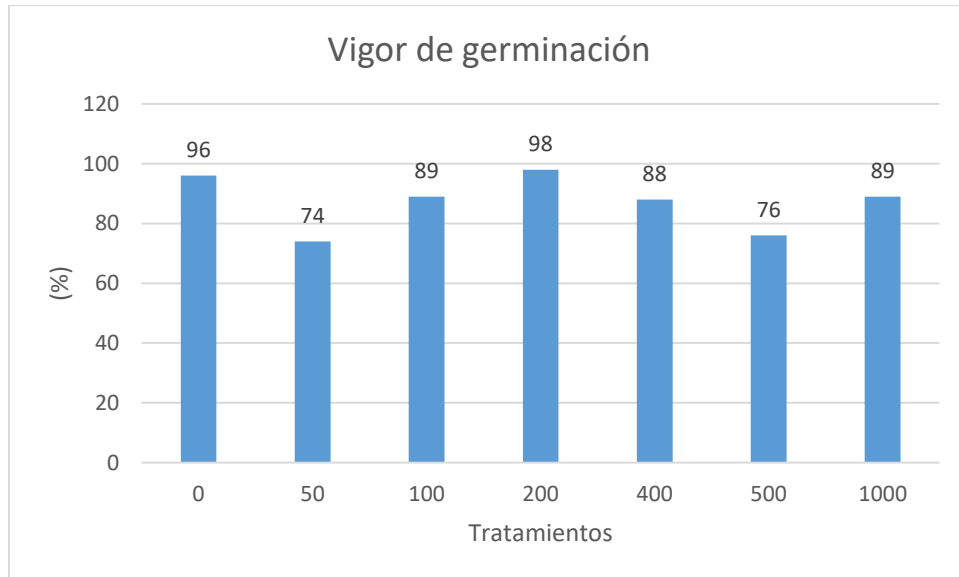
Wang, S., Liu, H., Zhang, Y. and Xin, H. 2015. Effect of CuO nanoparticles on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots of rice. Environmental Toxicological Chemistry, 34: 554- 561.

Yadav, A.S. and Srivastava, D.S. 2015. Application of nanotechnology in weed management: A Review. *Research & Reviews: Journal of Crop Science and Technology*, 4: 21-23.

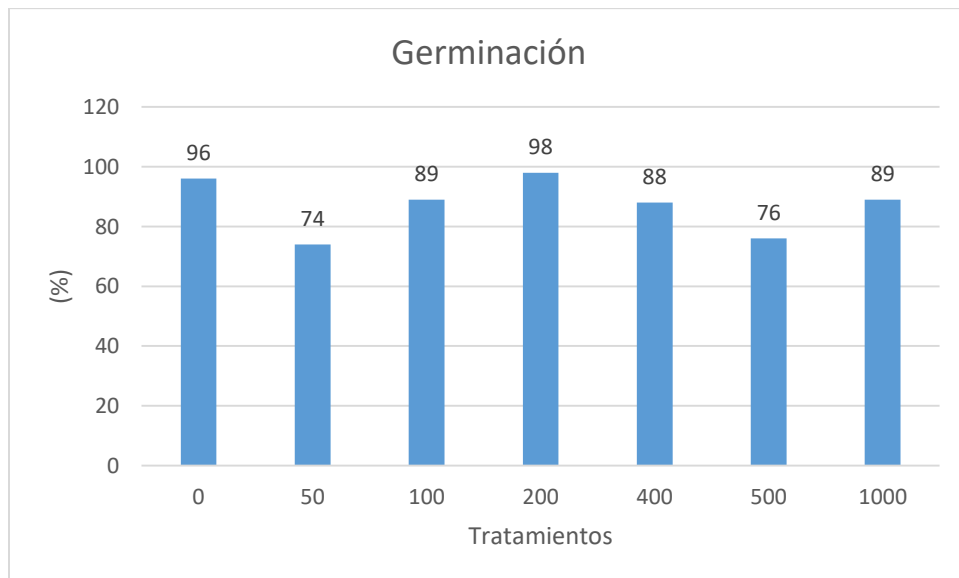
Yadollahi, A., Arzani, K. and Khoshghalb, H. 2009. The role of nanotechnology in horticultural crops postharvest management. In *Southeast Asia Symposium on Quality and Safety of Fresh and Fresh-Cut Produce 875*. 49-56 pp

VII. ANEXOS

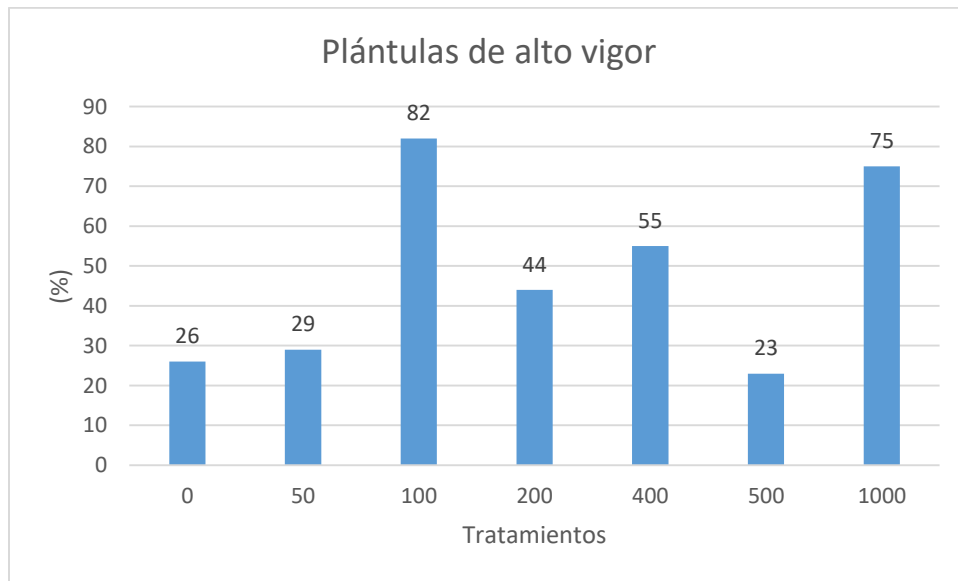
Anexo 1. Porcentaje de vigor de germinación de semillas de chile (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsZnO (ppm).



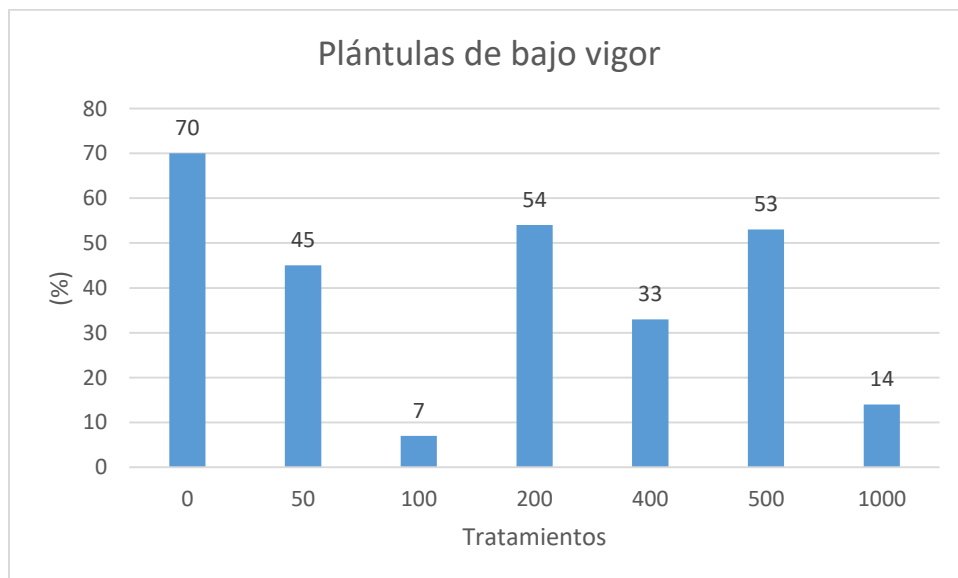
Anexo 2. Porcentaje de germinación de semillas de chile (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsZnO (ppm).



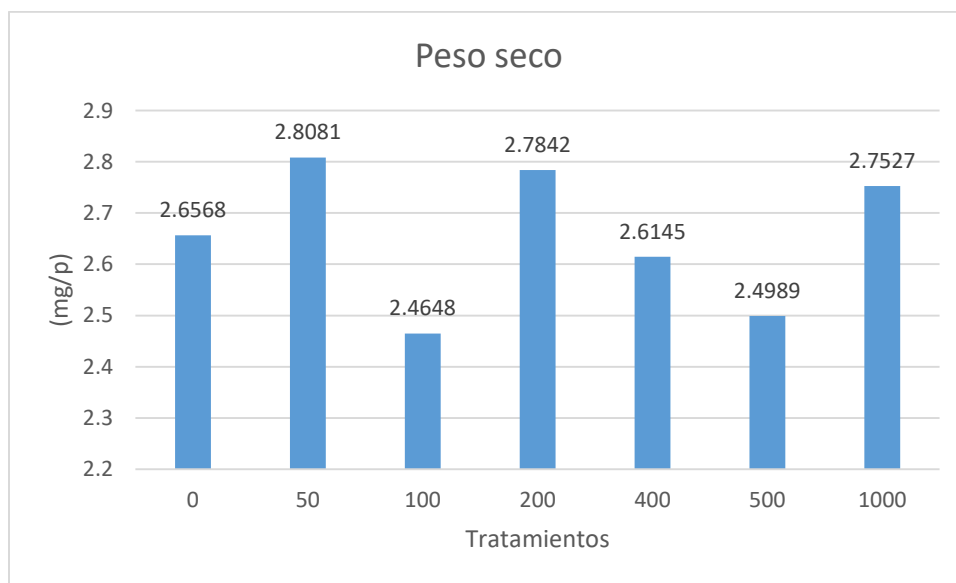
Anexo 3. Porcentaje de plántulas de alto vigor obtenidas de semillas de chile (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsZnO (ppm).



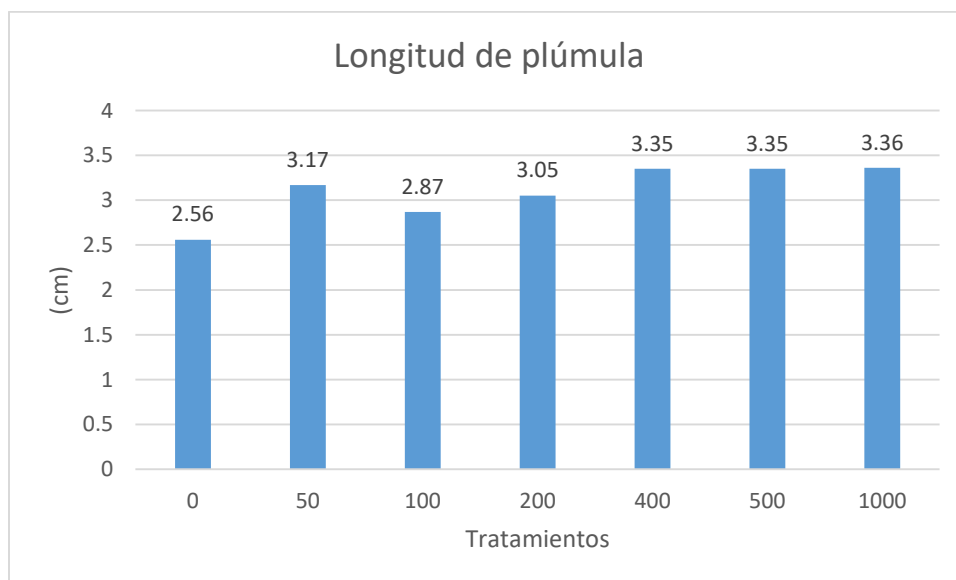
Anexo 4. Porcentaje de plántulas de bajo vigor obtenidas de semillas de chile (*Capsicum annuum*), tratadas con NPsZnO (ppm).



Anexo 5. Peso seco de plántulas (mg/plántula) obtenidas de semillas de chile (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsZnO (ppm).



Anexo 6. Longitud de plúmula (cm) de plántulas de chile (*Capsicum annuum*) obtenidas de semillas tratadas con NPsZnO.



Anexo 7. Longitud de radícula (cm) de plántulas de chile (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsZnO.

