

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Efecto de Nanopartículas de Óxido de Zinc (NPs ZnO) en la Germinación y Crecimiento Temprano de Plántulas de *Capsicum chinense*.

Por:

JORGE JESÚS FLORES GONZÁLEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2020.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Efecto de Nanopartículas de Óxido de Zinc (NPs ZnO) en la Germinación y
Crecimiento Temprano de Plántulas de *Capsicum chinense*.

Por:

JORGE JESÚS FLORES GONZÁLEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Josué Israel García López
Asesor Principal



Dra. Norma Angélica Ruiz Torres

Coasesor



Dr. Antonio Flores Naveda

Coasesor



Dr. José Antonio González Fuentes

Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México
Marzo, 2020.

AGRADECIMIENTOS

A MI MADRE:

Por haberme dado la fortaleza para nunca darme por vencido, por su paciencia y esmero, por inculcarme valores para ser un hombre de bien en la vida.

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS:

Por ser siempre un apoyo incondicional en todas mis etapas de desarrollo.

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO:

Por formarme profesionalmente, por recibirme en su seno, por brindarme techo y alimentación durante mi estancia y ser parte de la familia narro.

A LA DOCTORA NORMA RUIZ:

Por ser un ejemplo profesional y disciplina en su servicio profesional.

A LA DOCTORA MANUELA BOLIVAR:

Por todas sus atenciones y apoyo para culminar mis estudios.

AL DOCTOR FERNANDO VILLAREAL:

Por sus consejos y apoyo en mi formación profesional.

AL DOCTOR JOSUE GARCIA:

Por brindarme la oportunidad de pertenecer a su equipo.

AL DOCTOR ANTONIO FLORES

Por apoyarme en esta etapa profesional de mi vida.

AL EQUIPO DE FUTBOL AMERICANO BUITRES DE LA NARRO:

Por ser mi familia, mi inspiración, por el orgullo de portar y defender sus colores en un emparrillado frente a diferentes instituciones de enseñanza superior.

AL COACH ROBERTO CEPEDA HERNANDEZ:

Por todo su tiempo brindado en inculcarme el honor, la garra, perseverancia, espíritu combativo y a no derrotarme ante nada y ante nadie, de ser orgullosamente buitre de la narro.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVOS.....	2
1.1.1. Objetivo general.....	2
1.1.2. Objetivos específicos	2
1.2. Hipótesis	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Aplicación de la nanotecnología en la agricultura	4
2.2. Efecto de las NPs ZnO en el desarrollo de los cultivos	5
2.3. Captación y acumulación de NPs	7
2.4. Estrés oxidativo por la aplicación de NPs	13
2.5. Agentes no enzimáticos del sistema de defensa antioxidante.....	14
2.6. Antioxidantes enzimáticos del sistema de defensa antioxidante	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1. Localización del experimento.....	17
3.2. Material genético	17
3.3. Caracterización de nanopartículas.....	17
3.4. Tratamientos.....	18
3.5. Germinación de semillas y crecimiento de plántulas	18
3.6. Parámetros evaluados durante el desarrollo del bioensayo	19
3.6.1. Porcentaje de vigor de germinación	19
3.6.2. Porcentaje de Germinación.....	19
3.6.3. Plántulas Anormales (PA).....	19
3.6.4. Semilla sin Germinar (SSG).....	20
3.6.5. Peso Seco de Plántula (PS).....	20
3.7. Diseño experimental	20
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
V. CONCLUSIONES	25
VI. LITERATURA CITADA	26

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cuadrados medios de análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas <i>C. chinense</i> , sometidas a tratamientos con NPs ZnO.....	21
Cuadro 2. Comparación de medias para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas <i>C. chinense</i> , sometidas a tratamientos con NPs ZnO.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Categorización de los distintos mecanismos de toxicidad que pueden generar las NPs (Karl-Josef y Simone, 2011).....	6
Figura 2. Descripción general de la vía de captación, translocación y biotransformación de las NPs ZnO en un sistema vegetal; (A) sección transversal de la hoja que muestra la entrada de NPs a través de los estomas, la penetración de la cutícula y heridas; (B) corte transversal de la raíz que muestra la entrada de NPs a través de lesiones o biotransformación en iones de Zn y siguen vías apoplásticas y simplásticas (Singh <i>et al.</i> , 2017).....	12
Figura 3. Los mecanismos de toxicidad de NPs Zn y Cu a través de la producción de ROS.....	13

RESUMEN

Actualmente, el uso de nanopartículas de ingeniería en todos los sectores de la economía ha incrementado constantemente, ya que encuentran una infinidad de aplicaciones en campos como la electrónica, desarrollo de materiales y la biología. En la última década, el uso de nanopartículas metálicas (NPs) en la agricultura ha incrementado exponencialmente con la aplicación de nanofertilizantes y nanoplaguicidas, lo que ha llamado la atención de los investigadores en el área, ya que representan un gran avance para la aplicación de fertilizantes, debido a que son una de las opciones más efectivas para una mejora considerable del rendimiento agrícola.

En la actualidad, existe una gran cantidad NPs metálicas como las de hierro, cobre, cerio, plata, zinc y titanio que son aplicadas como fuente importante para la preparación de fertilizantes y pesticidas. Entre las NPs que se mencionaron anteriormente, destacan las nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO), ya que se consideran seguras para la aplicación a especies biológicas, debido a que el zinc (Zn) juega un papel importante en las funciones de la planta, modifica los efectos de las auxinas a través de la regulación de la síntesis de triptófano y actúa como cofactor en las enzimas redox, por lo tanto, la liberación gradual podría impactar positivamente en el crecimiento de las plantas. Sin embargo, existe poca información sobre el efecto de las NPs ZnO en la germinación, crecimiento de plantas y desarrollo de los cultivos.

Por lo anterior, para mejorar el conocimiento sobre el impacto de las NPs ZnO en los cultivos, se utilizó como modelo de respuesta semillas de chile habanero (*C. chinense*) para evaluar los efectos de las NPs ZnO a concentraciones de 0, 100, 200, 300 y 400 mg L⁻¹ en la germinación y el vigor de las semillas. Para cumplir con lo anterior, se estableció un bioensayo para pruebas de germinación de semillas, los parámetros evaluados fueron; vigor, germinación, plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG) y peso seco (PS) expresado en mg plántula⁻¹.

Los resultados del trabajo de investigación indicaron, que las concentraciones a 100 y 200 mg L⁻¹ estimularon el vigor y la germinación, además de incrementos en la acumulación de materia seca (PS), mientras que las concentraciones más elevadas (300 y 400 mg L⁻¹), afectaron el desarrollo de los parámetros asociados con la calidad fisiológica de las semillas, reducciones asociadas con la fitotoxicidad que pueden generar las NPs metálicas.

Palabras clave: Nanotecnología, óxido de zinc, vigor, germinación.

I. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología (NT) se enfoca al diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas a nano escala (menos de 100 nm) (Buzea *et al.*, 2007; Walker y Bucher 2009). Cualquier material, cuando está a escala nanométrica presenta nuevas propiedades que son diferentes a las de los materiales convencionales, debido a su pequeño tamaño y elevada relación superficie volumen, expresada en mayor reactividad química y energía superficial, con alta movilidad en el cuerpo de un organismo incluyendo la entrada celular (Yank y Vardar, 2015).

La NT desempeña un papel importante en la formulación de productos con ingredientes activos de tamaño nanométrico, que permiten un aumento de la productividad agrícola. Actualmente, se está desarrollando una variedad de nanopartículas metálicas tales como el hierro (Fe), el cobre (Cu), la plata (Ag), el zinc (Zn) y los polímeros a base de óxido metálico, incluyendo óxido de zinc (ZnO), dióxido de titanio (TiO₂) y los nanotubos de carbono (NTc), para usos agrícolas, ya que tienen el potencial de utilizarse como fertilizantes (Liu y Lal, 2015). Entre los diversos metales, las NPs de ZnO desempeñan un papel muy importante en los procesos bioquímicos, fisiológicos y anatómicos de las plantas (Zafar *et al.*, 2016).

El Zn es considerado un micronutriente esencial para el crecimiento y la mejora en el desarrollo de las plantas, ya que desempeña la posición más importante en varias rutas metabólicas, participando en el metabolismo de hormonas al regular el nivel de auxinas a través de la síntesis de aminoácido triptófano y es esencial para activar varias enzimas como el superóxido dismutasa y deshidrogenasas (Narendhran *et al.*, 2016). A la fecha, las NPs ZnO encuentran una gran diversidad de aplicaciones, tales como filtros solares, productos de cuidado personal, electrodos, iosensores y en la producción de alimentos. Por otra parte, se menciona que estas NPs tienen un potencial de aplicación como agentes

bacteriostáticos y pueden usarse para controlar la propagación e infección de diversos patógenos como *Penicillium expansum*, *Bortrytis cinerea*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium culmorum* (Raskar y Laware, 2014). También, algunos autores han señalado que la aplicación de NPs ZnO incrementa la germinación y el vigor de las semillas (Burman *et al.*, 2013). El efecto positivo de las NPs ZnO en las plantas incluye un mayor porcentaje de germinación, incremento en la longitud de plúmula y radícula, mayor acumulación de biomasa, debido a una mayor actividad fotosintética (Razzaq *et al.*, 2015).

Por otra parte, se menciona que el efecto de las NPs ZnO depende de las concentraciones y varía de planta a planta (Elizabeth *et al.*, 2017); sin embargo, la información relacionada con el efecto de las NPs ZnO en la germinación de semillas de chile habanero es casi inexistente. Por lo anterior, este trabajo determinó el impacto de las NPs ZnO puras en la germinación y el vigor de semillas de *Capsicum chinense*.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo general

Determinar el impacto de las NPs ZnO a diferentes concentraciones, en parámetros asociados con la calidad fisiológica en semillas de chile habanero (*C. chinense*).

1.1.2. Objetivos específicos

Evaluar el efecto de las NPs ZnO en concentraciones de 0, 100, 200, 300 y 400 mg L⁻¹ en el vigor, germinación y la acumulación de materia seca.

1.2. Hipótesis

H1: La aplicación de NPz ZnO durante el proceso de imbibición de las semillas de *C. Chínense* influye en el metabolismo de la semilla, estimulando la germinación y el vigor (acumulación de materia seca).

Ho=: La aplicación de NPz ZnO durante el proceso de imbibición de las semillas de *C. Chínense* no influye en el metabolismo de la semilla, ni estimula la germinación y el vigor (acumulación de materia seca).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aplicación de la nanotecnología en la agricultura

En la última década, el uso de nanomateriales en prácticas agrícolas como nanofertilizantes y los nanoplaguicidas ha ganado mucha atención. El desarrollo y la aplicación de fertilizantes como nanopartículas (NPs) son una de las opciones más efectivas para una mejora considerable del rendimiento agrícola. Las nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO) y óxido de cobre (NPs Cu) se consideran un material bioseguro para las especies biológicas. Estudios anteriores, han demostrado efectos positivos de las NPs ZnO durante la germinación de semillas y el crecimiento de las plantas, así como la mejora en el rendimiento y la calidad de los frutos (Rossi *et al.*, 2018). Sin embargo, en la literatura actual existe controversia ya que se han reportado efectos positivos y/o negativos sobre el crecimiento y el metabolismo de las plantas en diferentes estados fenológicos (López-Moreno *et al.*, 2010).

La agricultura tradicional ha utilizado fertilizantes convencionales o quelatos de EDTA-Zn para aplicaciones foliares y dirigidas al suelo, sin embargo, la eficacia es baja, debido a que son lixiviados, degradados por fotólisis, hidrólisis y descomposición (Fageria *et al.*, 2009). Por lo tanto, la absorción de los nutrientes por las plantas parece estar determinada por la fuente de micronutrientes, para afrontar este problema se requiere reducir las pérdidas de nutrientes en la fertilización y mejorar el rendimiento del cultivo con el uso de nuevas técnicas y sus aplicaciones en mejoras a la fertilización.

La nanotecnología, con el uso de NPs está proporcionando avances en las estrategias de nutrición de las plantas (Liu y Lal, 2015). Las principales ventajas de los fertilizantes a escala nanométrica (1-100 nm) son los puntos de impacto debido a su pequeño tamaño, que podrían mejorar la interacción y la captación de micronutrientes en la fertilización de cultivos (Elizabeth *et al.*, 2017).

Las aplicaciones foliares con nanofertilizantes han demostrado ser convenientes porque pueden suministrar nutrimentos a las plantas de manera gradual y más controlada que los fertilizantes convencionales (Prasad *et al.*, 2012). Otra ventaja de utilizar nanofertilizantes es que la aplicación se puede hacer en cantidades más pequeñas que los fertilizantes convencionales (Davaranah *et al.*, 2016).

2.2. Efecto de las NPs ZnO en el desarrollo de los cultivos

El impacto de las NPs ZnO se ha evaluado en diversos cultivos. Un estudio realizado por Rossi *et al.* (2018) demostró que la aplicación foliar de NPs ZnO influyó positivamente en el crecimiento y la fisiología de plantas de café (*Coffea arabica* L.), con efectos más favorables que las sales de Zn ($ZnSO_4$), principalmente debido a su mayor capacidad para penetrar en la hoja. Otra investigación realizada en arboles de granada (*Punica granatum* cv. Ardestani) mostró que la fertilización foliar con cantidades relativamente bajas de nanofertilizantes de Zn y B incrementó el rendimiento y la calidad de los frutos, incluyendo aumentos en los azúcares del jugo e incrementos en el índice de madurez (Davaranah *et al.*, 2016).

Los efectos de las NPs en las plantas son el resultado del hecho de que los materiales aplicados como nanofertilizantes cambian sus características físicas, químicas y biológicas, así como sus propiedades catalíticas, que a su vez, afectan las actividades químicas que pueden inducir estrés oxidativo y toxicidad en plantas, junto con la estimulación de los sistemas antioxidantes (Qados, 2015). Un estudio reciente concluyó que la nanotoxicidad depende tanto de la composición y concentración de las NPs, así como la especie evaluada (Figura 1) (Nhan *et al.*, 2015).

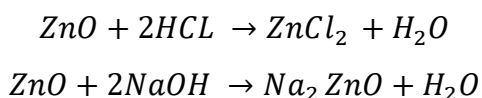


Figura 1. Categorización de los distintos mecanismos de toxicidad que pueden generar las NPs (Siddiqui *et al.*, 2015).

Las NPs ZnO mejoraron la germinación, los pigmentos, el azúcar y los contenidos de proteínas con un aumento de las actividades de las enzimas antioxidantes en diversos cultivos de vegetales (Singh *et al.*, 2013). Las NPs ZnO tienen un efecto significativo en la epidermis de la raíz y la corteza de *Lolium perenne* con la internalización de las NPs en los tejidos endodérmicos y vasculares (Lin y Xing, 2008). Además, las NPs ZnO poseen actividad antimicrobiana contra muchos organismos patógenos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni* (Xie *et al.*, 2011). El aumento en el rendimiento está directamente relacionado con la disminución en el número de microorganismos patógenos y también con el valor nutrimental del tipo de NPs, principalmente de micronutrientes esenciales para la planta, como el Zn y Cu (Servin *et al.*, 2015).

Kopittke *et al.* (2011) evaluaron el efecto de las NPs ZnO en plantas de *Phaseolus vulgaris* y encontraron que entre el 65-85% del zinc se regulaba como un complejo de zinc-fitato. Los iones de Zn^{++} activan la enzima fitasa, que puede estar unida al ácido fítico para generar fitato de Zn. El ácido fítico es altamente inestable y, por lo tanto, se estabiliza en forma de una sal metálica. En este caso,

los iones de Zn libres se unen al ácido fítico a través del oxígeno que da como resultado complejo de zinc-fitato. Considerando, que solo una fracción del Zn disuelto esta biodisponible y puede ser absorbido y translocado en las diferentes partes de las plantas, la solubilidad del óxido de Zn depende del pH, por qué es de naturaleza anfótera y se disuelve tanto en el ácido como en medios alcalinos como se muestra a continuación.



Por el contrario, Shaw *et al.* (2014) demostraron que las NPs CuO redujeron el crecimiento de brotes y raíces de las plántulas de *Hordeum vulgare*, con el paso del tiempo de manera dependiente de la dosis. También informaron, que las NPs CuO indujeron la producción de ROS, el daño a la membrana y incrementaron la actividad enzimática en general.

La biotransformación de las NPs puede aumentar la toxicidad o desintoxicar el sistema dentro de las plantas (Marslin *et al.*, 2017). Dichas transformaciones están relacionadas con la reacción redox, la sulfuración, la fosforilación y la modificación molecular (Lowry *et al.*, 2012). La sulfuración de las NPs Ag disminuyó la toxicidad en *E. coli* debido a la menor solubilidad del Ag₂S, del mismo modo, la formación de AgCl a partir de AgNO₃ en presencia de iones cloruro también tiene el mismo efecto. Las plantas que son expuestas a NPs pueden absorberlas y translocarlas en diferentes tejidos. Se ha demostrado que la aplicación de NPs CuO a plantas de maíz, se redujeron a Cu₂O y Cu₂S (Wang *et al.*, 2012).

2.3. Captación y acumulación de NPs

En el medio ambiente, el transporte de las NPs en las plantas es el factor más crítico para estimar el impacto de estos materiales en el metabolismo de las

plantas. La captación de las NPs depende del desplazamiento, el tamaño de partícula, la composición química, la estabilidad y la concentración (Pérez-de-Luque, 2017).

Una de las propiedades más importantes que impactan la absorción de las NPs a través de las raíces y hojas de las plantas, es el tamaño de las partículas. Algunos estudios han determinado que existe una selección de tamaño en la absorción de las NPs por parte de las plantas. Los iones y el agua pueden moverse fácilmente a través de canales iónicos y acuaporinas, porque el tamaño de los iones y las moléculas de agua están alrededor 0.28 nm, mientras que el tamaño de los poros de la pared celular fluctúa entre 2 y 20 nm (Nair *et al.*, 2010). Por lo tanto, el efecto de las NPs no solo puede atribuirse a la disolución del elemento en la superficie de la raíz o de la hoja, sino también a la captación de NPs (eficiencia externa) o la utilización de mineral activo de las NPs (eficiencia interna) en las células (Lough y Lucas, 2006).

Según Klaine *et al.* (2008), las características superficiales de las NPs también son importantes por su patrón de agregación, movimiento en los ecosistemas acuáticos y terrestres e interacciones con algas, plantas y hongos. Sabo-Attwood *et al.* (2012) utilizaron la tecnología de μ -XRF y TEM, y observaron que las NPs Au de 3.5 nm fueron absorbidas por las raíces de plantas de tabaco, pero las NPs de 18 nm permanecieron aglomeradas en las superficies externas de la raíz. Por su parte, Taylor *et al.* (2014) al utilizar TEM encontraron que las NPs Ag de 108 nm no fueron absorbidas directamente por las raíces de *Arabidopsis thaliana*. Asimismo, Slomberg y Schoenfisch (2012) mencionaron que al utilizar TEM observaron que las NP SiO₂ de 200 nm podían ser absorbidas por las raíces de *Arabidopsis thaliana*, aunque se observaron menos partículas a medida que aumentaba el tamaño de partícula (14, 50, 200 nm).

La absorción y acumulación de las NPs ZnO (8 nm) en plántulas de *Glycine max* fueron examinadas por López-Moreno *et al.* (2010). La captación de Zn por

las plántulas de soja fue mayor a 500 mg L^{-1} debido a una menor agregación, mientras que en concentraciones altas ($1000\text{-}4000 \text{ mg L}^{-1}$), se formaron aglomerados de NPs, lo que dificultó el paso a través del poro en la pared celular, en consecuencia se redujó la absorción y acumulación de Zn. En un experimento con el uso de TEM y $\mu\text{-XRF}$ se evaluó la captación y el transporte dependientes del tamaño de las NPs TiO_2 en plantas de trigo (*Triticum aestivum*), los resultados de esta investigación evidenciaron que las NPs con diámetros de 36 nm se acumularon en las raíces y se distribuyeron por todo el tejido de la planta sin disolución o transformación, mientras que las NPs con diámetros en el rango de 36 a 140 nm se acumularon en la parénquima de la raíz de las plantas de trigo, lo cual no les permito alcanzar las haces vasculares y por lo tanto no se translocaron a los brotes (Larue *et al.*, 2012).

Los resultados del estudio de Wang *et al.* (2013) demostraron que las NPs ZnO no se translocaron desde la raíz hasta los brotes de la planta de *Vigna unguiculata*, a pesar de la gran cantidad de NPs alrededor de la superficie de la raíz. Por lo tanto, el coeficiente de transferencia de Zn, que es la fracción de Zn en la hoja en comparación con la raíz, fue bastante bajo. La NPs ZnO en el medio ambiente se adhieren o disuelven rápidamente en las partículas del suelo, esto explica la ausencia de NPs ZnO en brotes (Scheckel *et al.*, 2010). Las raíces de las plantas tienen una superficie rugosa debido a la presencia de pelos radicales que pueden segregar mucílago o moléculas pequeñas como los ácidos orgánicos, y por lo tanto la superficie de la raíz generalmente muestra una carga negativa. Estas características hacen que las NPs con una carga superficial positiva sean más propensas a ser adsorbidas y se acumulen en la superficie de la raíz (Zhou *et al.*, 2011).

A pesar, de que se han realizado investigaciones relacionadas con la absorción de las NPs a través de las raíces y hojas, todavía es imposible estimar el tamaño idóneo para la asimilación de nutrientes en forma de NPs por la

planta. Otro factor a considerar, es que los tamaños de las NPs en la rizosfera son completamente diferentes de los originales.

Para que se produzca la captación y la translocación, estos materiales deben atravesar una serie de barreras fisiológicas desde la superficie hasta los vasos del xilema, incluida la cutícula de la superficie de la raíz, la epidermis, la corteza, la endodermis, la banda caspariana y finalmente el transporte hacia arriba hasta los brotes a través del xilema (Singh *et al.*, 2017). El papel y la composición de la cutícula de la superficie de la raíz son similares a los de la cutícula de la superficie de la hoja. Aún se desconoce si los NPs pueden penetrar en la superficie de la raíz. Sin embargo, la cutícula está subdesarrollada en la superficie de los pelos radiculares y desarrolla puntas radiculares de las raíces principales y secundarias, por lo que las NPs pueden estar directamente en contacto con la epidermis en estas regiones (Schwab *et al.*, 2016). En la epidermis de la raíz, existen dos vías básicas para la absorción de las NPs en la raíces de las plantas. La mayoría de los estudios han propuesto la vía apoplástica, en la que las NPs primero penetran en los poros de la pared celular y luego se difunden en el espacio entre la pared celular y la membrana plasmática o pasan a través del espacio intercelular sin cruzar la membrana celular (Pérez-de-Luque, 2017).

Para entender el transporte de NPs a través del plasmodesma, es importante entender que los plasmodesmos no son estructuras huecas, la estructura básica de los plasmodesmos es un canal lineal o ramificado a través de la pared celular, revestido por la membrana celular. El canal contiene una hebra denominada desmotúbulo del retículo endoplasmático (ER) que conecta los ER de dos células. El espacio entre la membrana celular y el desmotúbulo en el que se transporta la mayoría de los solutos, se denomina manga citoplásmica (Roberts y Oparka, 2003). El desmotúbulo y la membrana celular están conectados por proteínas, que subdividen el cilindro citoplásmico en varios microcanales de 3 a 4 nm de diámetro (Lucas y Jung-Youn, 2004; Roberts y Oparka, 2003). Los plasmodesmos, debido al tamaño de los microcanales tienen un límite de

exclusión de tamaño basal (SEL) en tejidos adultos de 3-4 nm, o 580–900 (Roberts y Oparka, 2003).

Las moléculas más grandes que el SEL basal, incluyendo al ARN, proteínas, factores de transcripción y virus de plantas, experimentan cambios conformacionales en el canal plasmodésmico (Roberts y Oparka, 2003). Dada la incapacidad de la mayoría de las NPs para sufrir cambios conformacionales, esto significa que los plasmodesmas, en circunstancias normales, no transportan las NPs con tamaños mayores de 4 a 43 nm. Sólo los solutos más pequeños que el SEL basal, como los azúcares, aminoácidos y/o iones se difunden directamente a través de los microcanales en el plasmodesma. Los plasmodesmos en células maduras tienen un diámetro de 20 a 40 nm en la región del cuello del cilindro citoplasmático y 50 a 60 nm de diámetro en el punto medio más ancho (Lin *et al.*, 2008).

Sin embargo, recientemente se ha mencionado un cambio en el paradigma del plasmodesmo rígido a fluido, dinámico y flexible que subraya la flexibilidad del SEL. La apertura del plasmodesmo puede ser modificada por calcio (Roberts y Oparka, 2003), proteínas o virus (Scholthof, 2005) y estrés ambiental (Dietz y Herth, 2011). Por ejemplo, todos los virus de las plantas se translocan a través de plasmodesmos, a través de proteínas de movimiento, estas proteínas dilatan las aberturas de los plasmodesmas en la región del cuello para permitir el paso de complejos de ácidos nucleicos de proteína virales (Scholthof, 2005). Por los factores antes mencionados y otros mecanismos, el SEL del plasmodesmo se puede expandir de 30-40 kDa. Las macromoléculas que poseen un diámetro de 10 nm pueden transitar a través de plasmodesmos (Larue *et al.*, 2012).

Para las NPs, el valor es menor porque a diferencia de las macromoléculas la mayoría de las NPs no pueden sufrir cambios conformacionales (Siddiqui *et al.*, 2015). Además, las NPs en sí pueden dilatar las SEL de los plasmodesmos, ya sea directamente o mediante cambios estructurales

inducidos por NPs (Larue *et al.*, 2012). Por ejemplo, las NPs TiO_2 rompió los microfilamentos en las raíces del trigo, lo cual permitió el tránsito de NPs de una célula a otra con diámetros superiores a 420 nm (Larue *et al.*, 2012). En la Figura 2, se muestra un esquema que representa la vía de captación, translocación y la acumulación de NPs en la planta; para una comprensión más detallada se muestra que la hoja y la raíz tienen vías y mecanismos de absorción y translocación de las NPs (Singh *et al.*, 2017).

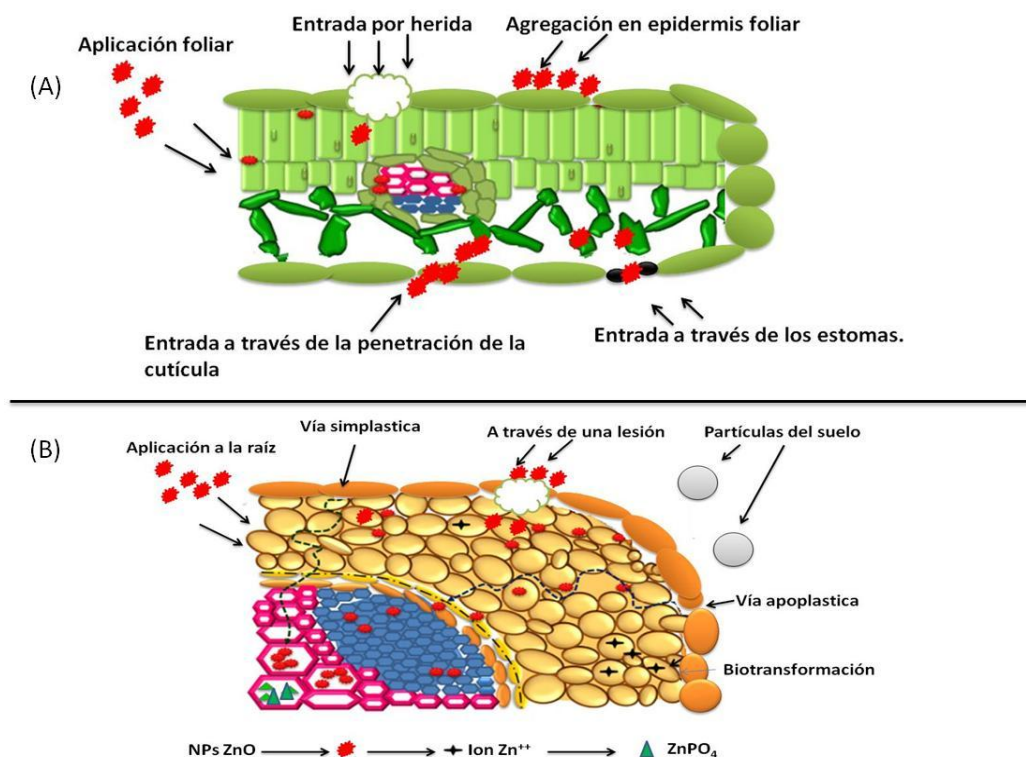


Figura 2. Descripción general de la vía de captación, translocación y biotransformación de las NPs ZnO en un sistema vegetal; (A) sección transversal de la hoja que muestra la entrada de NPs a través de los estomas, la penetración de la cutícula y heridas; (B) corte transversal de la raíz que muestra la entrada de NPs a través de lesiones o biotransformación en iones de Zn y siguen vías apoplásticas y simplásticas (Singh *et al.*, 2017).

2.4. Estrés oxidativo por la aplicación de NPs

La entrada de NPs como resultado de la fuerza motriz de protones y la captación de iones de zinc disueltos causa estrés oxidativo dentro de las células y genera especies reactivas de oxígeno (ERO). La toxicidad de ERO está acreditada por su alta reactividad y propiedades oxidantes, las especies reactivas, incluido el peróxido de hidrogeno (H_2O_2), radicales hidróxido ($OH\cdot$) y súper oxido ($O_2\cdot^-$) (Yang *et al.*, 2017). La toxicidad de estas especies incluye el daño de componentes celulares como los lípidos, el ADN y las proteínas, como resultado de su incorporación a la membrana de la célula.

Las ERO son el producto del metabolismo aeróbico en una planta común, que actúa como moléculas de señalización (Thannickal y Fanburg 2000), mientras que el exceso de ERO causaría efectos adversos (estrés oxidativo), que aparecen cuando el nivel de radicales libres supera los mecanismos de defensa, y es capaz de representar una amenaza para las células al inducir daño en el ADN, oxidación de proteínas, pérdida de electrolitos, peroxidación de lípidos y daño a la membrana, lo que finalmente causa la muerte celular (Figura 3) (Meriga *et al.*, 2004; Sharma *et al.*, 2012).

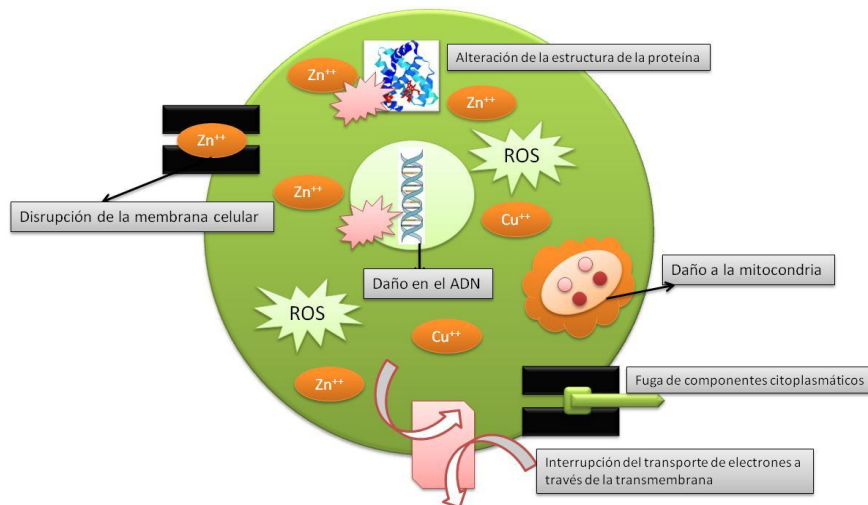


Figura 3. Los mecanismos de toxicidad de NPs Zn y Cu a través de la producción de ROS.

Frente al estrés oxidativo causado por la acumulación de ERO, los sistemas de defensa antioxidante de las plantas se activan, entre los principales se encuentran los antioxidantes no enzimáticos, incluidos los tioles, glutatión (GSH), compuestos fenólicos, ascorbato (AA) y componentes enzimáticos como catalasas (CAT), superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa de guaiacol (GPOX), ascorbato peroxidasa (APX) y peroxidasa (POD) (Singh *et al.*, 2015).

2.5. Agentes no enzimáticos del sistema de defensa antioxidante

Los tioles y AA son los antioxidantes de peso molecular significativamente más bajo. AA es un antioxidante crucial que puede resistir el estrés oxidativo inducido por el nivel promovido de la generación de ERO. Debido a que tiene la capacidad de donar electrones de AA en diversas reacciones no enzimáticas y enzimáticas, puede eliminar O_2^- y $\cdot OH$ y regeneran el α -tocoferol a partir del radical tocopheroxyl para proteger las membranas directamente (Noctor y Foyer, 1998).

El GSH, es uno de los metabolitos fundamentales (un tiol no proteico con bajo peso molecular) en las plantas, desempeña un papel clave en la defensa antioxidante intercelular contra el estrés oxidativo inducido por ERO. En tejidos vegetales, el GSH se encuentra comúnmente en todos los compartimentos celulares, incluidos los cloroplastos, mitocondrias, vacuola, citosol, así como en los peroxisomas (Foyer y Noctor, 2003).

Para preservar el estado normal de las células, el GSH desempeña un papel esencial para enfrentar el daño oxidativo inducido por las ROS. Como antioxidante, GSH actúa como donador de protones en los radicales libres orgánicos y/o en presencia de ROS, eliminando ROS y reduciendo a una forma de disulfuro, glutatión oxidado (GSSG) (Foyer y Halliwell, 1976).

Los compuestos fenólicos, por poseer propiedades antioxidantes pueden eliminar las especies ERO, al quelar los iones de los metales en transición e inhibir la peroxidación de lípidos mediante la captura de los polifenoles del alcoxi lipídico (-OCH₃) (García-López *et al.*, 2018). Los carotenoides, en particular son miembros de los antioxidantes lipofílicos y pueden desintoxicar muchas formas de ROS (Young, 1991). Sin embargo, la investigación de compuestos fenólicos, carotenoides y tocoferoles en respuesta a la exposición de NPs es muy escasa.

2.6. Antioxidantes enzimáticos del sistema de defensa antioxidante

SOD, es la metaloenzima intracelular más efectiva, juega un papel fundamental en el sistema de defensa antioxidante contra el estrés oxidativo al catalizar ROS altamente tóxicos ($O_2^{\cdot-}$) a H_2O_2 y O_2 que son menos tóxicos. Contiene tres isozimas, incluyendo SOD de hierro (Fe-SOD), SOD de manganeso (Mn-SOD) y SOD de cobre/zinc (Cu/Zn-SOD) (Fridovich, 1989). Al sobre producirse el H_2O_2 , ya sea por el estrés abiótico o biótico, la inducción de SOD en el sistema de defensa es capaz de evitar el estrés oxidativo como la peroxidación de lípidos.

CAT, desempeña un papel indispensable en la desintoxicación de ROS bajo estrés (Garg y Manchanda, 2009). Se encuentra ampliamente en enzimas que contienen hemo tetramérico y convierte el H_2O_2 en O_2 y H_2O . APX, también es considerado como el eliminador de ERO más importante para proteger plantas superiores, evita el estrés oxidativo y desempeña un papel central en la regulación del ciclo AA-GSH. En comparación con CAT y POD, APX tiene una mayor afinidad por el H_2O_2 , por lo tanto, puede convertir el H_2O_2 en H_2O molécula no tóxica por oxidación de AA en deshidroascorbato y MDA. Es una enzima dependiente de NADPH que cataliza la oxidación de GSH a GSSG, que puede mantener una alta proporción de GSH/GSSG en las células (Rao *et al.*, 2006).

Las investigaciones recientes se están enfocando en identificar los mecanismos de defensa de las plantas contra el estrés oxidativo inducido por las NPs. Es importante entender la fitotoxicidad de las NPs en las plantas y comprender como el sistema antioxidante enzimático y no enzimático se regula frente a altas concentraciones de ROS.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización del experimento

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), con coordenadas 25° 23' 25" de latitud norte 100° 50' 57" de longitud oeste, a una altitud de 1742 msnm en Buenavista, Saltillo, Coahuila México, durante el mes de junio del 2018.

3.2. Material genético

La variedad de *Capsicum chinense* utilizada fue Kisin del CICY, la cual se caracteriza por tener frutos de color rojo cuando está en la etapa de maduración y de color verde tenue cuando está inmaduro; con un peso promedio de 13.81 g y de tres a cuatro lóculos, con una pungencia de 670 325 en la escala Scoville.

3.3. Caracterización de nanopartículas

Las NPs ZnO utilizadas en este trabajo se adquirieron de Materiales Nanoestructurados y Amorfos Inc. (Houston, TX, USA). La morfología y microestructura de las muestras se examinaron mediante microscopía electrónica de transmisión convencional y de alta resolución (TEM y HRTEM) y difracción de electrones de área seleccionada (SAED) usando un microscopio (FEI-TITAN 80–300kV, Fisher Scientific, Hillsboro, OR, USA), operado a una tensión de aceleración de 300 kV. Las micrografías TEM y HRTEM se procesaron por medio del software de transformación rápida de Fourier (Digital Micrograph 3.7.0, Gatan Software, Pleasanton, CA, USA).

3.4. Tratamientos

La caracterización morfológica y estructural de las NPs ZnO utilizadas en este estudio ha sido reportada previamente por García-López *et al.* (2018). La mayoría de las partículas (75%) tenían diámetros de 12 a 24 nm, y el 30% mostraba tamaños mayores que 12 nm y menores que 20 nm. Para la preparación de las suspensiones con NPs ZnO, se generó una solución madre de 2000 mg L⁻¹, preparada en agua desionizada estéril y dispersada con un sonicador de sonda (Q500-110, Qsonica, Newtown, CT, USA), durante 25 min. La suspensión se diluyó y se usaron alícuotas de 100, 200, 300 y 400 mg L⁻¹.

3.5. Germinación de semillas y crecimiento de plántulas

Para el establecimiento del ensayo, las semillas se contaron en lotes de 100 por tratamiento, se usaron pinzas de disección para colocar las semillas en placas de Petri sobre dos capas de papel de filtro (Whatman, diámetro 90 mm). Los tratamientos utilizados fueron los siguientes: control (T1, agua destilada), 100 mg L⁻¹ (T2), 200 mg L⁻¹ (T3), 300 mg L⁻¹ (T4) y 400 mg L⁻¹ (T5) de suspensiones con NPs ZnO. Los tratamientos se aplicaron una vez durante la etapa de imbibición con una pipeta (PIPETMAN Classic 1–10mL, Gilson, Middleton, WI, EE. UU.). De las suspensiones con NPs ZnO, se agregaron diez mililitros a las concentraciones mencionadas anteriormente para cada tratamiento. Las semillas se colocaron durante 72 h en una cámara de prueba Lab-line Instruments a 25 °C ± 2 °C con un fotoperíodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad.

Una vez que se completó el período de imbibición de la semilla, se sembraron cuatro réplicas de 25 semillas por tratamiento en papel Anchor (Seedburo Equipment Company, Hidalgo, TX, USA). El papel de Anchor se humedeció con agua destilada, luego se colocaron 25 semillas horizontalmente sobre el papel, cuidando que el embrión de semillas se ubicara hacia abajo; luego se humedeció otro papel del mismo tamaño para cubrir las semillas.

Posteriormente, se plegaron en un rollo de 4 cm de ancho, se colocaron en cestas de tereftalato de polietileno de 20 cm de ancho y 45 cm de alto, y se volvieron a colocar en la cámara de prueba durante 14 días. El 14 bioensayo se desarrolló de acuerdo con las normas ISTA (2004).

3.6. Parámetros evaluados durante el desarrollo del bioensayo

En esta investigación, se determinaron los siguientes parámetros: porcentaje de germinación (%), el porcentaje de vigor de germinación (%), porcentaje de plántulas anormales (%), porcentaje de semillas sin germinar (%) y el peso de materia seca (mg/plántula).

3.6.1. Porcentaje de vigor de germinación

Al séptimo día después de la siembra, se realizó el primer conteo para la toma de datos de plántulas normales (plántulas que tienen bien desarrolladas la raíz y la plúmula), con la finalidad de determinar el vigor de germinación de la semilla, expresado este resultado en porcentaje.

3.6.2. Porcentaje de Germinación

El porcentaje de germinación se determinó a los 14 días después de la siembra (segundo conteo), para ello se consideró el conteo del total de plántulas normales y el resultado fue expresado en porcentaje.

3.6.3. Plántulas Anormales (PA)

Para la evaluación de este parámetro, se consideró como plántulas anormales todas aquellas plántulas con raíz primaria dañadas, con deformidades,

geotropismo negativo, sin raíces secundarias y con poco vigor para su óptimo desarrollo.

3.6.4. Semilla sin Germinar (SSG)

En esta evaluación, se contabilizaron todas aquellas semillas que no presentaron ningún signo de emergencia de plúmula y radícula, el resultado fue expresado en porciento.

3.6.5. Peso Seco de Plántula (PS)

Para finalizar el bioensayo, las plántulas normales (PN) de cada repetición fueron colocadas bolsas de papel estraza perforadas e identificadas dependiendo la repetición y el tratamiento, después se colocaron en una estufa de secado marca (RIOSA modelo H-24), con una temperatura de 72°C durante un periodo de 24 h, al pasar ese tiempo las muestras colocaron en un desecador. Posteriormente, para cada una de las unidades experimentales se registró el peso de las muestras en una balanza analítica (AND modelo HR-200), para determinar el valor del peso seco y se representó en mg/plántula.

3.7. Diseño experimental

El ensayo se configuro bajo un diseño experimental completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones; el modelo lineal general fue $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$, donde la variable de respuesta es Y_{ij} , μ el promedio general, α_i el efecto de las concentraciones de NPs ZnO y e_{ij} el error experimental. La unidad experimental consistió en un rollo de papel Anchor que contenía 25 semillas de chile habanero. La diferencia estadísticamente significativa entre las muestras se analizó con un ANOVA y las medias de los tratamientos se compararon con una prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico SPSS versión 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1, se presentan los cuadrados medios del análisis de varianza. Los resultados indicaron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) para todas las variables evaluadas (vigor, germinación, PA, SSG y PS). Lo anterior indica, que hubo una respuesta clara de las semillas de chile habanero a la aplicación de tratamientos con NPs ZnO; detectando un fuerte impacto en algunos rasgos asociados con la calidad fisiológica de las semillas. En el siguiente apartado, se presentarán los resultados de las comparaciones de medias, lo que permitirá discutir de manera más amplia los efectos de las NPs ZnO en el proceso de germinación y crecimiento de plántulas.

Cuadro 1. Cuadrados medios de análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas *C. chinense*, sometidas a tratamientos con NPs ZnO.

FV	GL	Vigor (%)	Germinación (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/plántula)
Tratamientos	4	1346.80**	838.00**	563.60**	213.20**	15.80**
Error	15	34.40	16.66	14.66	12.00	1.93
CV (%)		9.49	6.17	20.58	30.38	9.64

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente; FV = Fuentes de variación; GL = Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; Vigor = Plántulas normales al primer conteo; PA = Plántulas anormales; SSG = Semillas sin germinar; PS = Peso seco.

Los resultados de la comparación de medias, indican que el vigor se incrementó significativamente con la aplicación de NPs ZnO a concentraciones de 100 y 200 mg L⁻¹, superando al tratamiento control en 39.7% y 44.7%, pero a concentraciones de 300 y 400 mg L⁻¹ se presentaron reducciones del 37.6% y 45.8% en comparación con 300 mg L⁻¹ (Cuadro 2). La misma tendencia se observó para la germinación, ya que los tratamientos a 300 y 400 mg L⁻¹ indujeron los

mayores porcentajes de germinación, con incrementos del 31.8% y 27.7% al compararlos con el control (0 mg L⁻¹), sin embargo, a pesar de que los tratamientos a 300 y 400 mg L⁻¹ son estadísticamente iguales al control, se puede apreciar que tuvieron reducciones del 28.4% y 36.3% al compararlos con el tratamiento 100 mg L⁻¹ (Cuadro 2).

Los valores de germinación final, están directamente relacionados con los valores obtenidos en PA, ya que es evidente que a concentraciones de 100 y 200 mg L⁻¹ los valores de PA disminuyeron en 56.2% y 81.2%, en contra parte, las concentraciones más elevadas (300 y 400 mg L⁻¹) incrementaron los valores de PA en 90% y 90.6% al compararlas con el tratamiento con menor número de PA (200 mg L⁻¹).

En cuanto a la variable SSG, se puede observar que todos los tratamientos con NPs ZnO son significativamente diferentes al control, pero no existen diferencias en los tratamientos con NPs ZnO, la tendencia indica que el menor número de SSG se obtuvo con 100 mg L⁻¹, mientras que el mayor valor con 400 mg L⁻¹ (Cuadro 2). Para la acumulación de biomasa seca (PS), el tratamiento que presentó el mejor comportamiento fue 200 mg L⁻¹, superando en 31.5% al control (0 mg L⁻¹), pero se presentaron reducciones del 18.1% a 400 mg L⁻¹ al compararlos con el tratamiento 200 mg L⁻¹, cabe mencionar que a pesar de que se presentaron reducciones en los valores de PS para las concentraciones de 300 y 400 mg L⁻¹, se puede apreciar que estos tratamientos superan a los valores obtenidos en el control (0 mg L⁻¹).

Rameshraddy *et al.* (2017), mencionaron que la germinación y el crecimiento de las plántulas se estimulan a bajas concentraciones de NPs ZnO, mientras que las altas concentraciones pueden ser fitotóxicas. Lo anterior concuerda con los resultados reportados por Burman *et al.* (2013) quienes informaron que la respuesta máxima con respecto al peso seco del brote se

observó en plántulas de garbanzo tratadas con 1.5 mg L⁻¹ de NPs ZnO, mientras que a 10 mg L⁻¹ las NPs ejercieron efectos opuestos en el crecimiento de la raíz.

Cuadro 2. Comparación de medias para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas *C. chinense*, sometidas a tratamientos con NPs ZnO.

Tratamientos (mg L ⁻¹)	Vigor (%)	Germinación (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/plántula)
0	47.00 b	60.00 b	16.00 b	24.00 a	11.70 c
100	78.00 a	88.00 a	7.00 c	6.00 b	15.35 ab
200	85.00 a	83.00 a	3.00 bc	9.00 b	17.10 a
300	53.00 b	63.00 b	30.00 a	7.00 b	13.98 ab
400	46.00 b	56.00 b	32.00 a	11.00 b	14.00 bc
Media	61.80	70.00	18.60	11.40	14.43
Tukey (P≤0.01)	12.80	9.43	8.36	7.56	3.03

Valores con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, P≤0.01). PA = Plántulas anormales; SSG = Semillas sin germinar; PS = Peso seco de plántula.

Las NPs ZnO estimulan la germinación de las semillas debido a la penetración de las NPs al interior del embrión de la semilla, lo que permite el aprovechamiento de H₂O y los iones de Zn⁺⁺, lo que resulta en la activación del metabolismo de la semilla para la degradación de reservas que benefician las primeras etapas del proceso de germinación (Lin y Xing, 2007). Además, los efectos beneficiosos de las NPs ZnO podrían atribuirse a una mayor activación de enzimas como la α y β amilasa que son responsables de las reacciones metabólicas en la etapa de germinación (Krishna y Natarajan, 2014).

Sin embargo, los efectos negativos que se observaron a concentraciones de 300 y 400 mg L⁻¹ puede atribuirse a dos efectos principales: (1) una toxicidad química en base a la liberación de iones (tóxicos) en este caso a la penetración de partículas de tamaño nano y también a la disolución los iones de Zn⁺⁺; (2) el estrés

o estímulos causados por la superficie, el tamaño y/o forma de las partículas (Lee *et al.*, 2010). Estudios realizados por Narendhran *et al.* (2016) informaron que la aplicación de NPs ZnO promovió el crecimiento de la radícula en *Sesamum indicum* a 0.1, 0.25 y 0.5 mg L⁻¹, mientras que a concentraciones de 1.0 y 2.0 mg L⁻¹, mencionaron una disminución. No obstante, es difícil establecer un modelo de respuesta de los efectos de NPs ZnO en la fisiología de las plantas, ya que el efecto depende de la especie y la concentración (Lin y Xing, 2007).

V. CONCLUSIONES

Las suspensiones de NPs ZnO a concentraciones de 100 a 200 mg L⁻¹, estímulo el vigor de germinación y la acumulación de biomasa seca.

Las concentraciones a 300 y 400 mg L⁻¹, afectaron negativamente los parámetros asociados con la calidad fisiológica de semillas; principalmente el vigor, la germinación y la acumulación de materia seca.

Es importante mencionar, que los efectos que pueden causar las NPs ZnO en las plantas son variables y el efecto dependerá de la forma de la NPs, la concentración y/o la especie.

VI. LITERATURA CITADA

Burman, U., Saini, M., and Kumar, P. 2013. Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings. *Toxicological and Environmental Chemistry* 95: 605-612.

Buzea, C., Pacheco, I. I., & Robbie, K. 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17-MR71.

Davarpanah, S., Tehranifar, A. Davarynejad, G. Abadía, J. and Khorasani, R. 2016. Effects of foliar applications of zinc and boron nano-fertilizers on pomegranate (*Punica granatum* cv. *Ardestani*) fruit yield and quality. *Scientia Horticulturae* 210:57-64.

Elizabeth, A., Bahadur, V., Mishra, P., and Prasad, V.M. 2017. Effect of different concentrations of iron oxide and zinc oxide nanoparticles on growth and yield of carrot (*Daucus carota* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(4):1266-1269.

Fageria, N., Filho, M.B. Moreira, A. and Guimaraes, C. 2009. Foliar fertilization of crop plants. *J Plant Nutr* 32:1044-1064.

Foyer, C.H. and Halliwell, B. 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*. 133:21-25.

Foyer, C.H. and Noctor, G. 2003. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiol Plant* 119:355-364.

Fridovich, I. 1989. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. *J Biol Chem* 264:7761-7764.

García-López, J.I., Zavala-García, F. Olivares-Sáenz, E. Lira-Saldívar, R. Barriga-Castro, E. Ruiz-Torres, N.A. Ramos-Cortez, E. Vázquez-Alvarado, R. and Niño-

- Medina, G. 2018. Zinc oxide nanoparticles boosts Phenolic compounds and antioxidant activity of *Capsicum annuum* L. during germination. *Agronomy* 8, 215.
- Garg, N. and Manchanda, G. 2009. ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosyst* 143:81-96.
- Klaine, S.J., Alvarez, P.J. Batley, G.E. Teresa, F. F. Richard, D. Delina, Y. Mahendra, S.L. Michael, J. and Jamie R.L. 2008. Nanomaterials in the environment: behaviour, fate, bioavailability, and effects. *Environ Toxicol Chem* 27(9): 1825-1851.
- Kopittke, P.M., Menzies, N.W. De Jonge, M.D. McKenna, B.A. Donner, E. Webb, R.I. Paterson, D.J. Howard, D.L. Ryan, C.G. Glover, C.J. Scheckel, K.G. and Lombi, E. 2011. In situ distribution and speciation of toxic copper, nickel and zinc in hydrated roots of cowpea. *J Plant Physiol* 156:663-673.
- Krishna, K. K., & Natarajan, N. 2014. Customizing zinc oxide, silver and titanium dioxide nanoparticles for enhancing groundnut seed quality. *Indian Journal of Science and Technology*, 7(9), 1376-1381.
- Larue, C., Laurette, J. Herlin-Boime, N. Khodja, H. Fayard, B. Flank, A. Brisset M.F. and Carriere, M. 2012. Accumulation, translocation and impact of TiO₂ nanoparticles in wheat (*Triticum aestivum* spp.): Influence of diameter and crystal phase, *Sci Total Environ* 431:197-208.
- Lee, C. W., Mahendra, S., Zodrow, K., Li, D., Tsai, Y. C., Braam, J., & Alvarez, P. J. 2010. Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 29(3), 669-675.
- Lin, D. and Xing, B. 2008. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environ Sci Technol* 42:5580-5585.
- Lin, D., & Xing, B. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150(2), 243-250.

- Lin, S.H., Kuo, H.F. Canivenc, G. Lin, C.S. Lepetit, M. Hsu, P.K. Tillard, P, Lin, H.L. Wang, Y.Y. Tsai, C.B. Gojon, A. and Tsay, Y.F. 2008. Mutation of the *Arabidopsis* NRT1.5 nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport. *Plant Cell* 20:2514-2528.
- Liu, R. and Lal, R. 2015. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Sci Total Environ* 514:131-139.
- Lopez-Moreno, M.L., De La Rosa, G. Hernandez-Viezcas, J.A. Castillo-Michel, H. Botez, C.E. Peralta-Videa, J.R. and GardeaTorresdey, J.L. 2010. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ NPs on soybean (*Glycine max*) plants. *Environ Sci Technol* 44:7315-7320.
- Lough, T.J. and Lucas, W.J. 2006. Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annu Rev Plant Biol* 57:203-232.
- Lowry, G.V., Gregory, K.B. Apte, S.C. and Lead, J.R. 2012. Transformations of nanomaterials in the environment. *Environ Sci Technol* 46:6893-6899.
- Lucas, W.J. and Lee, J.Y. 2004. Plasmodesmata as a supracellular control network in plants. *Nat Rev Molec Cell Biol* 5:712-726.
- Marslin, G., Sheeba, C.J. and Franklin, G. 2017. Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS burst. *Frontiers in Plant Science*, 8,832.
- Meriga, B., Reddy, B.K. Rao, K.R. Reddy, L.A. and Kishor, P.B.K. 2004. Aluminium-induced production of oxygen radicals, lipid peroxidation and DNA damage in seedlings of rice (*Oryza sativa*). *J Plant Physiol* 161:63-68.
- Nair, R., Varghese, S.H. Nair, B.G. Maekawa, T. Yoshida, Y. and Kumar, D.S. 2010. Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Sci* 179:154-163.
- Narendhran, S., Rajiv, P., & Sivaraj, R. 2016. Toxicity of ZnO nanoparticles on germinating *Sesamum indicum* (Co-1) and their antibacterial activity. *Bulletin of Materials Science*, 39(2), 415-421.

Nhan, L.V., Ma, C. Rui, Y. Liu, S. Li, X. Xing, B. 2015. Phytotoxic mechanism of nanoparticles: destruction of chloroplasts and vascular bundles and alteration of nutrient absorption. *Sci Rep* 5:11618.

Noctor, G. and Foyer, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Biol* 49:249-279.

Pérez-de-Luque, A. 2017. Interaction of nanomaterials with plants: what do we need for real applications in agriculture? *Frontiers in Environmental Science* 5:12.

Prasad, T. N. V. K. V., 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(6):905-927.

Qados, A. M. S. 2015. Mechanism of nanosilicon-mediated alleviation of salinity stress in faba bean (*Vicia faba* L.) plants. *American Journal of Experimental Agriculture* 7(2):78-95.

Rameshraddy, G. J., Pavithra, G. J., Mahesh, S., Geetha, K. N., & Shankar, A. G. 2017. Seed priming and foliar spray with nano zinc improves stress adaptability and seed zinc content without compromising seed yield in ragi (*Finger millet*). *Int. J. Pure Appl. Biosci*, 5, 251-258.

Rao, K., Raghavendra, A. Reddy, K. 2006. *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants*. Netherlands: Springer.

Raskar, S.V., and Laware, S.L. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(2):467-473.

Razzaq, A., Ammara, R., Jhanzab, H.M., Mhamood, T., Hafeez, A., and Hussain, S. 2015. A novel nanomaterial to enhance growth and yield of wheat. *Journal of Nanoscience and Technology* 2(1):55–58.

Roberts, A.G. and Oparka, K.J. 2003. Plasmodesmata and the control of symplastic transport. *Plant Cell Environ* 26:103-24.

Rossi, L., Fedenia, L.N. Sharifan, H. Ma, X. and Lombardini, L. 2018. Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 135:160-166.

Sabo-Attwood, T., Unrine, J.M. Stone, J.W. Murphy, C. J. Ghoshroy, S. Blom, D. Bertsch P.M. and Newman, L.A. 2012. Uptake, distribution and toxicity of gold nanoparticles in tobacco (*Nicotiana xanthi*) seedlings. *Nanotoxicology* 6:353-360.

Scheckel, K.G., Luxton, T.P. El Badawy, A.M. Impellitteri, C.A. and Tolaymat, T.M. 2010. Synchrotron speciation of silver and zinc oxide nanoparticles aged in a kaolin suspension. *Environ Sci Technol* 44(4):1307-1312.

Scholthof, H.B. 2005. Plant virus transport: motions of functional equivalence. *Trends Plant Sci* 10:376-82.

Schwab, F., Zhai, G.S. Kern, M. Turner, A. Schnoor, J.L. and Wiesner, M.R. 2016. Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants-Critical review. *Nanotoxicology* 10:257-278.

Servin, A., Elmer, W. Mukherjee, A. Torre-Roche, R.D. Hamdi, H. White, J.C. Bindraban, P. and Dimkpa, C. 2015. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *J Nanoparticle Res* 17:92.

Sharma, P., Jha, A.B. Dubey, R.S. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J Bot* 1-26.

Shaw, A.K., Ghosh, S. Kalaji, H.M. Bosa, K. Brestic, M. Zivcak, M. and Hossain, Z. 2014. Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of Syrian barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environ Exp Bot* 102:37-47.

Siddiqui, M.H., Al-Whaibi, H.M., and Mohamad, F. 2015. Nanotechnology and plant Sciences. *Nanoparticles and Their Impact on Plants*. Springer International Publishing 305 p.

- Singh, A., Singh, N.B. Afzal, S. Singh, T. and Hussain, I. 2017. Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants. *Journal of Materials Science* 53(1): 185-201.
- Singh, N.B., Amist, N. Yadav, K. Singh, D. Pandey, J.K. Singh, S.C. 2013. Zinc oxide nanoparticles as fertilizer for the germination, growth and metabolism of vegetable crops. *J Nanoeng Nanomanufacturing* 3:1-12.
- Singh, V.P., Singh, S. Kumar, J. Prasad, S.M. 2015. Investigating the roles of ascorbate-glutathione cycle and thiol metabolism in arsenate tolerance in ridged luffa seedlings. *Protoplasma* 252:1217-1229.
- Slomberg, D.L. and Schoenfisch, M.H. 2012. Silica nanoparticle phytotoxicity to *Arabidopsis thaliana*. *Environ Sci Technol* 46:10247-10254.
- Taylor, A.F., Rylott, E.L. Anderson, C.W. and Bruce, N.C. 2014. Investigating the toxicity, uptake, nanoparticle formation and genetic response of plants to gold, *PLoS One* 9, e93793.
- Thannickal, V.J. and Fanburg, B.L. 2000. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 279:1005-1028.
- Walker, N.J., and Bucher, J.R. 2009. A 21st century paradigm for evaluating the health hazardous of nanoscale materials? *Toxicol. Sci.* 110:251-254.
- Wang, P., Menzies, N.W. Lombi, E. McKenna, B.A. Johannessen, B. Glover, C.J. Kappen, P. and Kopittke, P.M. 2013. Fate of ZnO nanoparticles in soils and cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environ Sci Technol* 47:13822-13830.
- Wang, Z., Xie, X. Zhao, J. Liu, X. Feng, W. White, J.C. and Xing, B. 2012. Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environ Sci Technol* 46:4434-4441.
- Xie, Y., He, Y. Irwin, P.L.I. Jin, T. Shi, X. 2011. Antibacterial activity and mechanism of action against *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol* 77(7):2325-2331.

Yang, J., Cao, W. and Rui, Y. 2017. Interactions between nanoparticles and plants: phytotoxicity and defense mechanisms. *Journal of Plant Interactions* 12(1):158-169.

Yank, F. and Vardar, F. 2015. Toxic effects of aluminum oxide (Al_2O_3) nanoparticles on root growth and development in *Triticum aestivum*. *Water Air Soil Pollut.* Pp. 3-13.

Young, A.J. 1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol Plant* 83:702-708.

Zafar, H., Alli, A., Ali, J.S., Haq, I.U., and Zia, M. 2016. Effect of ZnO nanoparticles on *Brassica nigra* seedlings and stem explants: Growth dynamics and antioxidative response. *Frontiers in Plant Science* 7: 1-8.

Zhou, D.M., Jin, S.Y. Li, L.Z. Wang, Y. and Weng, N.Y. 2011. Quantifying the adsorption and uptake of CuO nanoparticles by wheat root based on chemical extractions. *J Environ Sci* 23:1852-1857.