



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES

INFLUENCIA DE LAS NANOPARTÍCULAS DE
ÓXIDO DE ZINC SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA
Y SANITARIA DE LA SEMILLA DE MAÍZ NATIVO
(*Zea mays* L.)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTA:

JUAN ESTRADA URBINA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ABRAHAM MÉNDEZ ALBORES

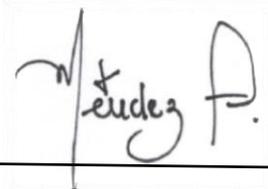


Iguala de la Independencia, Guerrero. Diciembre del 2018

INFLUENCIA DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA Y SANITARIA DE LA SEMILLA DE MAÍZ NATIVO (*Zea mays* L.)

Tesis que presenta Juan Estrada Urbina bajo la Dirección del Comité Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Director de Tesis: 
Dr. Abraham Méndez Albores

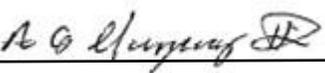
Co-director de Tesis: 
Dr. Blas Cruz Lagunas

ASESORES


M. en C. Cándido Luna León


M. en C. Ulises Martínez Alonso


Dr. José Manuel Castro Salas


Dra. Alma Guadalupe Vázquez Durán

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: Rosalío Estrada Nájera y Ma. Guadalupe Urbina Bahena

Es mucho lo que quisiera decirles en agradecimiento al esfuerzo realizado por ustedes para darme educación. Paradójicamente he aprendido mucho más de ustedes que de la escuela misma (aunque en la mayoría de los casos siempre es así). Me han preparado muy bien para poder enfrentar a la vida y les agradezco todo lo que han hecho por mí, aunque si bien es cierto que quizás no he sido un buen hijo pero todo lo que he logrado hasta el día de hoy ha sido gracias a ustedes, y eso lo reconozco.

A mis hermanos: Rosalío Lehninger Estrada Urbina, Neisi Guadalupe Estrada Urbina, Felix Roselia Estrada Urbina y Modesto Alfredo Estrada Urbina

Los hermanos siempre buscaremos lo mejor para nosotros y ustedes como mis hermanos siempre han deseado lo mejor para mí, así como yo para ustedes. Los quiero mucho.

Al Dr. Javier Saldaña Almazán, Rector de la Universidad Autónoma de Guerrero

Por todo el apoyo otorgado durante el tiempo que cursé la carrera. Gracias a usted fue que pude ver mis sueños realizados y concluir una de las etapas más importantes en la vida académica de un estudiante. Gracias a usted fue que pude realizar dos intercambios académicos en dos grandes Universidades del país: la UNAM y la UAEMex; así también, usted me dio la gran oportunidad de formarme como investigador a través de los programas de Verano de la Investigación Científica.

Al Dr. Abraham Méndez Albores y a la Dra. Alma Vázquez Durán

Por haberme permitido trabajar con ustedes y dirigir mi trabajo de Tesis. Fueron parte esencial en mi formación académica, ya que gracias a ustedes fue que pude crecer y desarrollar las habilidades respectivas requeridas en el ámbito de la investigación.

A mis asesores

Por haber aceptado ser mis asesores de Tesis. Ustedes de igual forma fueron unos grandes profesores que demostraron dominio de los temas en cada uno de los cursos que me impartieron.

A la vida...

“Porque veo al final de mi rudo camino, que yo fui el arquitecto de mi propio destino”.

–Amado Nervo

DEDICATORIAS

A mis padres y a mis hermanos: Nuevamente a ustedes, como el motor de mi vida.

A mi mejor amiga de la Secundaria: Tania Lizbeth Arroyo Arzate.

A mi mejor amiga de la Preparatoria: Norma Itzel Araujo Cuevas

A mi mejor amiga de la Universidad: Grecia Guadalupe Lara Ocampo

A las personas que se volvieron importantes en mi vida: Yulissa Secundino Eusebio, Yesica Yazmín Casarrubias Moreno, Ma. del Socorro García Reyes, María del Carmen Ugalde Méndez y Mayra Jazmín Bernardino Contreras.

A mi Hija Académica: Elyde Marcelino Angeles

Todas ustedes forman parte importante en mi vida.

A los chicos del Laboratorio 14: Alejandro Cruz Alonso (Sherlok Holmes), David Hernández Melendez (El Deivid), Alejandro Pérez de León (El Alex), María de Jesús Nava Ramírez (Mary Pavos), Jacqueline Uribe (La Jacquis), Martha Santander González (Martita) y Mary Carmen Juárez Raya (Mary Bichos), Brian Monroy Torres, Wendy Zavala Toledo, Kaori Sánchez Carrillo, Anai Zavala Franco (Anais) y Francisco García Salinas (Paco).

En ustedes encontré una gran amistad. Agradezco todo lo que algún día hicieron por mí y tengan por seguro que siempre los recordaré como unos grandes amigos.

A “Los Prontos” de la Generación 38 de Ingeniería Agrícola de la FES-Cuautitlán C4 UNAM.

Ustedes hicieron que mi estancia fuera muy grata e inolvidable. Los quiero.

Al Ing. Juan Carlos Vázquez Ramírez, Jefe de la Unidad del SNICS en Guerrero.

Por haberme permitido trabajar con usted. Sus enseñanzas, consejos y palabras, han sido significativos para mi crecimiento profesional.

A la MRH. Cintia Karina García Castillo, Subdirectora de Operación Regional del SNICS.

Por la ayuda invaluable, las atenciones y la amistad ofrecida a lo largo de mi trayectoria laboral. Agradezco el haberme dado la confianza de encontrar en ti una amiga. Te aprecio mucho.

“Toda la gloria del mundo, cabe en un grano de maíz”. -**José Martí**

ÍNDICE GENERAL.....	Pag
LISTADO DE TABLAS	i
LISTADO DE FIGURAS	iv
RESUMEN	v
SUMMARY	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	3
III. OBJETIVOS.....	4
3.1 Objetivo General	4
3.2 Objetivos Específicos.....	4
3.3 Hipótesis	4
IV. REVISIÓN DE LA LITERATURA	5
4.1 Generalidades del maíz	5
4.1.1 Origen del maíz.....	5
4.1.2 Tipos de maíz	5
4.1.3 Importancia de los maíces nativos en México	6
4.2 Nanotecnología	8
4.2.1 La nanotecnología en la agricultura.....	9
4.2.1.1 Nanopartículas de óxido de zinc en los cultivos agrícolas.....	10
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12

5.1 Localización del experimento	12
5.2 Químicos y reactivos	12
5.3 Síntesis y caracterización de las ZnO NPs	12
5.5 Experimento en el laboratorio	13
5.5.1 Material vegetal.....	13
5.5.2 Suspensión de recubrimiento con las ZnO NPs	14
5.5.3 Acondicionamiento de las semillas	15
5.6 Descripción de los tratamientos	15
5.7 Evaluación de la calidad de la semilla.....	15
5.7.1 Germinación estándar.....	16
5.7.2 Vigor por envejecimiento acelerado.....	16
5.8. Variables evaluadas.....	16
5.8.1 Porcentaje de germinación y de contaminación microbiológica.....	16
5.8.2 Longitud y diámetro de la plúmula	17
5.8.3 Longitud de la raíz y número de raíces secundarias.....	17
5.8.4 Análisis FTIR-ATR (raíz y plúmula).....	17
5.9 Diseño experimental y análisis estadístico.....	18
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
6.1 Caracterización de las ZnO NPs.....	19
6.1.1 Propiedades ópticas de ultravioleta visible y de reflectancia difusa.....	19

6.1.2 Morfología de las nanopartículas de ZnO	22
6.1.3 Distribución del tamaño y concentración de las partículas usando análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA).....	23
6.1.4 Análisis FTIR-ATR de las nanopartículas de ZnO	24
6.2 Vigor de la semilla.....	25
6.2.1 Calidad fisiológica.....	25
6.2.2 Calidad sanitaria	28
6.3 Vigor de la plántula	29
6.3.1 Longitud y diámetro de la plúmula	29
5.3.2 Longitud de la raíz y número de raíces secundarias.....	31
6.4 Análisis FTIR-ATR	35
VII. CONCLUSIONES	40
VIII.LITERATURA CITADA	41

LISTADO DE TABLAS

Contenido	Pág.
Tabla 1. Efecto de las ZnO NPs en la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas de maíz durante las pruebas de germinación estándar y de envejecimiento acelerado.....	25
Tabla 2. Efecto de las ZnO NPs en el vigor de la plántula de maíz en la prueba de germinación estándar y en el envejecimiento acelerado.....	34
Tabla. 3 Asignaciones de las bandas de las principales vibraciones activas presentes en los espectros FTIR-ATR de la plúmula y de la raíz de la plántula de maíz.....	37
Tabla 4. Área de la banda del espectro FTIR-ATR del tejido de la raíz y de la plúmula en la plántula de maíz.....	39

LISTADO DE FIGURAS

Contenido	Pág.
Figura 1. Semilla de maíz nativo rojo (Tlalnepantla-0917).....	13
Figura 2. Suspensión de recubrimiento a base de almidón de maíz gelatinizado conteniendo las ZnO NPs.....	14
Figure 3. Espectro de absorción UV-Vis de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.....	19
Figura 4. (a) Espectro de reflectancia difusa, y (b) Espectro de reflectancia de las nanopartículas de ZnO sintetizadas, transformado por la función de Kubelka-Munk.....	20
Figura 5. Espectro de emisión de fluorescencia de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.....	21
Figura 6. Imagen ilustrativa del TEM de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.....	22
Figura 7. Distribución del tamaño y concentración de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.....	23
Figura 8. Espectro típico de FTIR-ATR de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.....	24
Figura 9. Comparación de la germinación en la prueba del envejecimiento acelerado (EA). (a) ZnO NPs, (b) Semilla cubierta, y (c) Control.....	26
Figura 10. Comparación de la contaminación microbiológica en la semilla de maíz durante la prueba de germinación estándar (GE). (a) ZnO NPs, (b) Semilla cubierta, y (c) Control.....	28
Figura 11. Comparación del vigor de la plántula de maíz a los 7 d. (a) ZnO NPs, (b) Semilla cubierta, y (c) Control.....	30
Figura 12. Espectro FTIR del tejido de la plántula de maíz. (a) Raíz, y (b) Plúmula.....	36

RESUMEN

En el presente estudio, se realizó la evaluación de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs) sobre la mejora de la calidad fisiológica y sanitaria de una raza Mexicana de maíz nativo rojo, mediante las pruebas de germinación estándar (GE) y de envejecimiento acelerado (EA). Respecto a la calidad fisiológica, se encontró un incremento significativo en la germinación de las semillas en ambas pruebas de germinación con el uso de las ZnO NPs, siendo más notorio en el EA (90%) en contraste con el grupo Control (68%). El recubrimiento conteniendo únicamente el almidón gelatinizado pareció mantener la germinación de la semilla (80%). Estos resultados indican que el recubrimiento con almidón conteniendo las ZnO NPs protegió y estimuló la germinación de la semilla cuando ésta se encontró bajo condiciones de estrés abiótico (40°C y 100% HR). Asimismo, se encontró que las ZnO NPs protegieron a las semillas contra ciertos microorganismos patógenos como hongos y bacterias en ambas pruebas de germinación; en consecuencia una contaminación de 37% y 8% fue observada para la GE y el EA, respectivamente, en comparación con el grupo Control (70 y 40%, respectivamente). Adicionalmente, las ZnO NPs mejoraron de manera significativa algunas características de la plántula de maíz como la longitud de la plúmula, el diámetro de la plúmula, la longitud de la raíz, y el número de raíces secundarias. La espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier con reflexión total atenuada (FTIR-ATR) confirmó una mayor producción de las biomoléculas (carbohidratos, proteínas, y lípidos) y de las moléculas estructurales (celulosa, hemicelulosa, y lignina) en las plántulas tratadas con las ZnO NPs. De estos resultados se concluye que el uso de ZnO NPs mejoró la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla de maíz nativo.

Palabras clave: Nanopartículas de ZnO, semilla de maíz nativo, calidad fisiológica y sanitaria.

SUMMARY

In the present study, the evaluation of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) on the improvement of the physiological and sanitary quality of a Mexican landrace of red maize was carried out by means of the standard germination tests (SG) and the accelerated aging test (AA). Regarding the physiological quality, a significant increase in seed germination was found in both tests with the use of ZnO NPs, being more noticeable in the AA (90%) in comparison with the Control group (68%). The coating containing only gelatinized starch appeared to maintain seed germination (80%). These results indicate that the starch-coating containing ZnO NPs protected and stimulated germination when seed were subjected to conditions of abiotic stress (40°C and 100% RH). Likewise, it was found that the ZnO NPs protected the seeds against certain pathogenic microorganisms such as fungi and bacteria in both germination tests; consequently, an average contamination of 37% and 8% was observed for the SG and AA, respectively, in comparison with the Control group (70 and 40%, respectively). Additionally, the ZnO NPs significantly improved some seedlings traits such as shoot length, shoot diameter, radical length, and number of secondary roots. Fourier transform infrared spectroscopy with attenuated total reflection (FTIR-ATR) confirmed a higher production of biomolecules (carbohydrates, proteins, and lipids) and structural molecules (cellulose, hemicellulose, and lignin) in the seedlings treated with ZnO NPs. From these results, it is concluded that ZnO NPs improved the physiological and sanitary quality of the native maize seed.

Keywords: ZnO nanoparticles, native maize seed, physiological and sanitary quality.

I. INTRODUCCIÓN

La intervención de la nanotecnología en la agricultura tiene perspectivas brillantes para mejorar la eficiencia del uso de los fertilizantes a través de nanoformulaciones, reduciendo las cantidades de productos químicos a porciones significativamente menores que las requeridas convencionalmente, protegiendo así al agroecosistema.

En años recientes, se han realizado progresos notables en el desarrollo de la nanotecnología como plataforma tecnológica para investigar sus efectos sobre los sistemas biológicos. El aumento en el uso de los nanomateriales en la agricultura, ha estimulado a los investigadores a conocer el efecto de su aplicación en el crecimiento y el desarrollo de las plantas, así como en la mejora de la calidad de las semillas.

El tamaño nanométrico de dichos materiales les brinda una mayor facilidad de penetración a través de las membranas biológicas, causando cambios morfo-fisiológicos, en comparación con los materiales con escala micrométrica (en bulto).

El Zinc (Zn) es el micronutriente esencial más importante requerido por las plantas. Desempeña un papel fundamental en diversos procesos metabólicos como en la producción de la clorofila, la síntesis de auxinas, la activación enzimática, y la integridad de la membrana. Asimismo, juega un papel importante en la producción de la biomasa, la funcionalización del polen, y en la germinación de las semillas debido a su participación como co-factor de diversas enzimas.

Existen reportes que indican que las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs) incrementan el nivel de ácido indolacético (AIA) en las raíces y en los brotes apicales de las plantas, promoviendo de esta forma su velocidad de crecimiento.

Diversos autores señalan que debido a las características distintivas provistas por la alta área superficial específica con respecto al volumen, la reactividad, el tamaño, y la forma, las ZnO NPs desempeñan una función importante en la producción de la clorofila, la elongación de la raíz, la producción de polen, la producción de biomasa, y en la mejora de la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas.

Por lo anteriormente descrito, resulta promisorio la transición de la agricultura tradicional a la agricultura conjunta con la nanotecnología como una alternativa sostenible en la mejora de la calidad de las semillas, del vigor de la plántula, y del incremento en el rendimiento de los cultivos agrícolas de las especies nativas.

II. JUSTIFICACIÓN

En México, centro de origen y de diversificación del maíz, existen 59 razas descritas por sus características morfológicas, bioquímicas, y su distribución en regiones geográficas específicas del país (Vielle-Calzada y Padilla, 2009). Desde el punto de vista alimenticio, político, económico, y social, el maíz es el cultivo más importante del país, cubriendo una superficie agrícola sembrada de 7.6 millones de hectáreas (SIAP, 2017). Se estima que el 76.5% de esta área es cultivada con razas nativas (Vega-Álvarez *et al.*, 2017), las cuales, además de ser parte del patrimonio biocultural de México, son el sustento de miles de familias de las zonas rurales del país, quienes las siembran para su autoconsumo (Fernández *et al.*, 2013). Es por ello que resulta necesario llevar a cabo trabajos y programas de investigación en la producción de semillas que permitan la evaluación e identificación de la calidad fisiológica de las mismas en cuanto a su germinación y su vigor (Viloria y Méndez, 2007). Es por esto la importancia que tiene el desarrollo de tecnologías que mejoren los sistemas de producción agrícola en beneficio de los pequeños productores para la protección, la conservación, y la reivindicación de las razas nativas de maíz.

Ante lo mencionado, este estudio tiene como objetivo la síntesis y la caracterización de ZnO NPs, así como su aplicación en semillas de una raza de maíz nativo, con el objetivo de determinar la influencia que éstas tienen sobre la mejora en la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla, así como en el vigor de la plántula.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

- Sintetizar y evaluar el efecto de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs) sobre la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla de una raza de maíz nativo (*Zea mays* L.) del Estado de México.

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar las nanopartículas de ZnO por el método de precipitación y caracterizarlas por espectroscopia UV-Vis, espectroscopia de reflectancia difusa, espectroscopia de fluorescencia, microscopia electrónica de transmisión, espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier con reflexión total atenuada (FTIR-ATR), y análisis de seguimiento de nanopartículas.
- Determinar el efecto de las ZnO NPs sobre la germinación de la semilla y el vigor de plántula de maíz.
- Determinar el efecto de las ZnO NPs sobre los microorganismos patógenos presentes en la germinación de la semilla de maíz.
- Identificar los principales grupos funcionales en el tejido de la raíz y del tallo mediante FTIR-ATR.

3.3 Hipótesis

- Las nanopartículas de ZnO mejorarán la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla de maíz nativo pigmentado del Estado de México.

IV. REVISIÓN DE LA LITERATURA

4.1 Generalidades del maíz

4.1.1 Origen del maíz

La evidencia más antigua del maíz como alimento proviene de algunos lugares arqueológicos en México donde algunas mazorcas pequeñas estimadas en más de 5,000 años de antigüedad se encontraron en las cuevas de los habitantes primitivos. El maíz se deriva del teosintle, a través de mutaciones y por selección natural que fue obtenido por los primeros agricultores fitomejoradores (Beadley, 1939; 1978; 1980). Es aceptado el hecho de que el teosintle es el antecesor silvestre del maíz, y que ha participado directamente en el origen del maíz cultivado. La hipótesis de Beadley de que el maíz es una forma domesticada del teosintle ha encontrado considerable apoyo por parte de diversos investigadores como Galinat, (1988, 1995) Goodman, (1988) y Doebley, (1990).

4.1.2 Tipos de maíz

El maíz tiene una gran variabilidad en el color, la textura, la composición, y la apariencia. Puede ser clasificado en distintos tipos según: *i*) la constitución del endospermo y del grano; *ii*) el color del grano; *iii*) el ambiente en el que es cultivado; *iv*) la madurez, y *v*) su uso.

Los tipos de maíz más importantes son el duro, el dentado, el reventón, el dulce, el harinoso, el ceroso, y el tunicado. Dowsell *et al.* (1996) han descrito varios tipos de granos basados en la clasificación citada. Económicamente, los tipos más importantes de maíz cultivados para grano o forraje y ensilaje se encuentran dentro de las tres categorías “duro”, “dentado”, y “harinoso”, consideradas las más

importantes. Un cuarto tipo de maíz que puede ser agregado a los anteriores es el maíz con proteína de alta calidad (QPM) basado en el mutante *opaco-2* obtenido en la búsqueda de una mejor calidad de las mismas.

4.1.3 Importancia de los maíces nativos en México

Desde el punto de vista alimentario, político, económico, y social, el maíz es el cultivo más importante del país, cubriendo una superficie agrícola sembrada de 7.5 millones de hectáreas (SIAP, 2018), principalmente en las zonas sub-húmeda tropical, templada húmeda, y sub-húmeda (Mera-Ovando y Mapes-Sánchez, 2009).

Los maíces nativos, además de ser parte del patrimonio biocultural de México, son el sustento de miles de familias en las zonas rurales, por lo que su protección y conservación resulta fundamental (Fernández *et al.*, 2013). Recientemente, se han realizado valiosas investigaciones con el fin de evaluar otras cualidades en las razas nativas.

Vázquez-Carrillo *et al.* (2011) investigaron la aptitud de algunas razas nativas de la región serrana de Sonora para ser usadas en la elaboración de preparaciones culinarias tradicionales, además de la tortilla. Con respecto al contenido de nutrientes y fitoquímicos de interés en las variedades nativas, existen trabajos en los que se ha determinado la presencia de componentes bioactivos en los maíces pigmentados (López-Martínez *et al.*, 2009; Salinas-Moreno *et al.*, 2012; Salinas-Moreno *et al.*, 2013) y en sus productos (Aguayo-Rojas *et al.*, 2012; Mora-Rochín *et al.*, 2010). Otros investigadores se han enfocado en el contenido de aceite de algunas variedades nativas (Torres-Morales *et al.*, 2010) como también en el contenido de azúcares en maíz elotero (Coutiño-Estrada *et al.*, 2010).

Se ha reportado también que las razas nativas, respecto de las variedades mejoradas, presentan la ventaja de adaptarse en los terrenos más limitados en nutrientes (Turrent-Fernández *et al.*, 2012; Vázquez-Carrillo *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2013), tal es el caso del Zn cuyo déficit en los suelos se ha registrado a nivel mundial (Adhikari *et al.*, 2015; Prasad *et al.*, 2012). De igual forma, la deficiencia de Zn es un problema presente en más del 50% de los suelos de México, lo que conlleva a una mala nutrición de los cultivos, reduciendo su producción en un 20%, y por consecuencia, una deficiencia de Zn en la población Mexicana (Castellanos *et al.*, 2014).

Para corregir los efectos negativos en los cultivos por la deficiencia de este elemento, se adiciona sulfato de zinc ($ZnSO_4$) a manera de fertilizante, dependiendo de las condiciones del suelo (Melgar y Díaz-Zorita, 1997). No obstante, esta práctica puede llegar a generar un impacto negativo en el ambiente debido a su uso irracional.

En términos del rendimiento, las variedades mejoradas han mostrado ser notablemente superiores a las nativas, pero los pequeños productores suelen preferir sus variedades locales. Esto se debe a ciertas ventajas que se han identificado en las razas nativas, las cuales en su mayoría se siembran en terrenos edafológicos más limitativos (Turrent-Fernández *et al.*, 2012).

Con base en diversas consideraciones que involucran la importancia de los maíces nativos de México, se expresa que la conservación del germoplasma de los mismos depende fundamentalmente de la protección que se otorgue a los agricultores en pequeña escala a través de subsidios, asesoría técnica, y con programas de

desarrollo rural planificados y adaptados a las condiciones reales del medio (Kato *et al.*, 2009). De manera adicional, la revalorización de los usos tradicionales y el impulso estratégico de usos novedosos pueden contribuir notablemente a la conservación *in situ* de los maíces nativos (Fernández *et al.*, 2013), por lo que las acciones que se propongan para potenciar el uso de las variedades nativas locales deben considerar las barreras propias de la composición y características del grano; las barreras del manejo poscosecha; las de carácter económico, además de los factores socioculturales (Hellin *et al.*, 2010).

4.2 Nanotecnología

La nanotecnología se presenta como un área nueva de investigación de los materiales que permite el estudio de fenómenos inéditos que ocurren a nivel atómico y molecular. La importancia de la nanotecnología radica en que a nivel nanométrico, los materiales adquieren propiedades diferentes con relación a los materiales de escala micrométrica (Mendoza y Rodríguez-López, 2007).

La nanotecnología, considerada una tecnología con relevante importancia para diferentes sectores, está dedicada a la síntesis, la caracterización y la aplicación de materiales de dimensiones nanométricas cuyo tamaño oscila entre 1 a 100 nm (Ali *et al.*, 2014; Patel *et al.*, 2014).

Diversos elementos han sido utilizados para la síntesis de nanomateriales, tal es el caso de las nanopartículas metálicas, siendo las más estudiadas las de oro, plata, paladio, cobre, hierro, titanio y zinc (Khot *et al.*, 2012).

Las ZnO NPs han sido usadas en diferentes áreas como la industria de los cosméticos, los textiles, la medicina, la electricidad, y en la agricultura (Chang et al., 2012). En el sector agrícola, son estudiadas por su excelente actividad antimicrobiana (Fang *et al.*, 2013; Sabir *et al.*, 2014) y por su potencial como nanofertilizante, ya que pueden corregir las deficiencias de Zn en las plantas, promoviendo su crecimiento y su desarrollo (Naderi y Shahraki, 2013; Raskar y Laware, 2014; Dimkpa *et al.*, 2015).

4.2.1 La nanotecnología en la agricultura

La intervención de la nanotecnología en la agricultura tiene perspectivas brillantes para mejorar la eficiencia del uso de nutrientes a través de nanoformulaciones de fertilizantes, el control de plagas, y el desarrollo de plaguicidas de nueva generación, reduciendo de esta manera la cantidad del producto por aplicar al suelo o al follaje, a dosis significativamente menores que las requeridas convencionalmente, protegiendo así al agroecosistema (Xue *et al.*, 2014).

Por otro lado, la intervención de la nanotecnología en el sistema postcosecha ayudará a la conservación, al envasado de alimentos, al fortalecimiento de las fibras naturales, y a la eliminación de los contaminantes del suelo y del agua, mejorando el tiempo de conservación de los vegetales, la recuperación de los suelos afectados por la salinidad, y la estabilización de las superficies propensas a la erosión (Muckhopadhyay, 2014).

Actualmente, se considera que los nanodispositivos tendrán la capacidad de detectar infestaciones de plagas y de enfermedades en los cultivos, la deficiencia de nutrientes o cualquier otro problema de fitosanidad, mucho antes de que los

síntomas sean evidentes en la escala macro (Scott y Chen, 2013). No obstante, se prevé un gran futuro a través de la exploración y la explotación de los materiales biológicos de origen agrícola y natural en beneficio de una sociedad sostenible con el estudio de los diversos nanomateriales (Faunce *et al.*, 2013).

4.2.1.1 Nanopartículas de óxido de zinc en los cultivos agrícolas

Las nanopartículas son una opción bastante prometedora debido a su tamaño, su volumen de superficie, y sus propiedades fisicoquímicas. Diversas nanopartículas tienen aplicaciones potenciales en el sector agrícola, un ejemplo de ellas son las de óxido de cobre, las de óxido de titanio, y las de óxido de zinc (Kardos *et al.*, 2014).

Existen reportes indicando que las ZnO NPs incrementan el nivel del ácido indolacético en las raíces y en los brotes apicales, promoviendo de esta forma la velocidad de crecimiento en las plantas (Shyla y Natarajan, 2014). Esto es debido a que el Zn es uno de los nutrientes esenciales y un componente muy importante de varias enzimas responsables de diversas reacciones metabólicas; también desempeña una función importante en la producción de la clorofila, la germinación de las semillas, la producción del polen, y de la biomasa (Pandey *et al.*, 2010). El efecto de las ZnO NPs en el crecimiento vegetal podría relacionarse también a la actividad que tiene el Zn como precursor en la producción de auxinas, las cuales promueven la elongación y la división celular (Rehman *et al.*, 2012).

Este efecto promotor ha sido atribuido al Zn por ser éste uno de los micronutrientes esenciales demandados para la división celular y por su importancia como componente de varias enzimas, el cual a su vez también está implicado en la

síntesis de las proteínas, los carbohidratos, los lípidos, y los ácidos nucleicos (Tarafdar *et al.*, 2014).

Por lo anteriormente expuesto, el presente proyecto pretende evaluar el efecto de las ZnO NPs con el objetivo de mejorar la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla, y el vigor de la plántula de una raza de maíz nativo pigmentado del Estado de México

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización del experimento

El presente estudio se desarrolló en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES Cuautitlán), Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM-Laboratorio 14), cuyas coordenadas geográficas son 19° 41' 23.2" latitud N y 99° 11 '23.9" longitud O, con una altitud de 2280 msnm.

5.2 Químicos y reactivos

Todos los químicos y los reactivos utilizados en este estudio fueron de grado analítico y se utilizaron sin purificación. Se empleó nitrato de zinc hexahidratado ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, pureza de 98%), hidróxido de sodio (NaOH, pureza $\geq 97\%$) y glicerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, pureza $\geq 99.5\%$), los cuales fueron adquiridos de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA). El almidón de maíz de grado comercial se adquirió de Ingredion México S.A. de C.V. (Tlalnepantla, Estado de México, México). Se empleó agua desionizada para la preparación de las soluciones respectivas.

5.3 Síntesis y caracterización de las ZnO NPs

Las ZnO NPs fueron sintetizadas por el método de precipitación con base en la metodología descrita por Estrada-Urbina *et al.* (2018), empleando nitrato de zinc hexahidratado ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e hidróxido de sodio (NaOH) como precursores.

Las ZnO NPs fueron caracterizadas por espectroscopia de UV-Vis de absorción (Cary 8454 UV-Vis, Agilent Technologies, Woodbridge, Ontario, USA), espectroscopia de reflectancia difusa (DRS, Lambda 365, Perkin-Elmer, Waltham,

MA, USA), fluorescencia (LS-55, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA), microscopía electrónica de transmisión (TEM, JEM-1010, JEOL, Peabody, MA, USA), análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA, NanoSight NS300, Malvern Instruments, Worcestershire, UK), y espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier con reflexión total atenuada (FTIR-ATR, Frontier SP8000, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA) de acuerdo con las metodologías descritas por Estrada-Urbina *et al.* (2018) y Hernández Meléndez *et al.* (2018).

5.5 Experimento en el laboratorio

5.5.1 Material vegetal

Se utilizó semilla de maíz nativo pigmentado rojo (Tlalnepantla-0917) producida y cosechada en el año 2017 a 2308 msnm en Coyotepec, Estado de México (Figura 1) la cual fue proporcionada por los pequeños productores de la región.



Figura 1. Semilla de maíz nativo rojo (Tlalnepantla-0917).

La semilla fue del tipo semi-cristalino/harinoso con un tamaño promedio de 11.6 x 8.3 x 4.3 mm de largo, ancho, y espesor (semilla plano medio), con un peso de mil

semillas de 341.8 ± 0.22 g y un peso hectolítrico de 75.81 ± 0.45 kg/hL. La semilla presentó un contenido de humedad de 9.7 ± 0.16 % y un valor de pH de 6.02 ± 0.03 .

5.5.2 Suspensión de recubrimiento con las ZnO NPs

Para el recubrimiento, se preparó una suspensión de 600 mL para 1 Kg de semilla. Para ello, 7 g de almidón de maíz fueron suspendidos en 450 mL de agua <desionizada. Se mezcló hasta homogeneizar y se calentó hasta alcanzar 80°C para lograr la gelatinización. La suspensión se mantuvo en agitación durante 10 min y se agregaron 700 μL de glicerol como agente plastificante y se dejó en agitación durante 5 min. Posteriormente, 350 mg de ZnO NPs fueron suspendidos en 150 mL de agua desionizada y se llevó a sonicar durante 20 min a 25 KHz y 100% de potencia para re-suspender las nanopartículas. Finalmente se agregaron las ZnO NPs a la suspensión del almidón y se dejó enfriar a temperatura ambiente (Figura 2).



Figura 2. Suspensión de recubrimiento a base de almidón de maíz gelatinizado conteniendo las ZnO NPs.

5.5.3 Acondicionamiento de las semillas

Las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 1 min y se enjuagaron en agua destilada estéril tres veces para remover el excedente. Posterior a ello, las semillas fueron inmersas en la suspensión preparada de ZnO NPs durante 10 min. Una vez transcurrido el tiempo, las semillas se retiraron y se secaron a temperatura ambiente.

5.6 Descripción de los tratamientos

El primer tratamiento con la etiqueta “Control” consistió en la semilla sin recubrimiento; el segundo tratamiento denominado “SC” constó en un recubrimiento a la semilla con almidón de maíz gelatinizado; y el tercer tratamiento con la abreviación “ZnO NPs”, fue el recubrimiento de la semilla a base de almidón de maíz gelatinizado con la incorporación de las ZnO NPs a un contenido de 0.16 mg ZnO NPs ($\approx 7.7 \times 10^9$ partículas por semilla).

5.7 Evaluación de la calidad de la semilla

La influencia de las ZnO NPs sobre la calidad de la semilla se determinó mediante la valoración de: 1) la calidad fisiológica, tomando en cuenta el porcentaje de germinación, 2) la calidad sanitaria, registrando el número de semillas contaminadas por microorganismos, 3) el vigor de la plántula, considerando ciertos parámetros morfológicos como la longitud de la plúmula, el diámetro de la plúmula, la longitud de la raíz, y el número de raíces secundarias, y 4) la producción de biomoléculas en el tejido de la parte aérea y de la raíz de las plántulas, mediante un análisis FTIR-ATR.

5.7.1 Germinación estándar

Se emplearon cuatro réplicas de 50 semillas sobre toallas de papel celulosa, previamente hidratadas. Los tratamientos fueron aleatorizados y los rollos se colocaron en una cámara de germinación a 25°C durante 7 d con fotoperiodo alternado de 16/8. Las plántulas fueron evaluadas de acuerdo con los procedimientos de la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA, 2005).

5.7.2 Vigor por envejecimiento acelerado

Se dispusieron de 50 semillas en réplicas de cuatro que fueron colocadas sobre una zaranda dentro de una cámara plástica conteniendo 1 L de agua (cámara interna), y situada en una cámara de EA (cámara externa). Las semillas se envejecieron a 41°C y 100% de humedad relativa durante 96 h (Moreno, 1984). Transcurrido el tiempo de estrés, se procedió a realizar la prueba de germinación estándar.

5.8. Variables evaluadas

5.8.1 Porcentaje de germinación y de contaminación microbiológica

Para el porcentaje de germinación se contó el número de semillas que produjeron plántulas al séptimo día, considerando germinadas a las semillas que presentaron la emergencia de la radícula o más del 50 % del coleóptilo lleno y a punto de salir la hoja (Hartmann y Kester, 1982).

Del mismo modo se realizó el registro de la contaminación microbiológica en la semilla tomando en cuenta como semilla contaminada aquella que presentó micelio o colonias bacterianas en la epidermis.

Los porcentajes de germinación y de contaminación se calcularon mediante las siguientes ecuaciones:

$$PG = \left(\frac{NSG}{50} \right) 100 \quad (1)$$

$$PC = \left(\frac{NSC}{50} \right) 100 \quad (2)$$

Donde PG= porcentaje de germinación, NSG= número de semillas germinadas; PC= porcentaje de contaminación, NSC= número de semillas contaminadas.

5.8.2 Longitud y diámetro de la plúmula

El recuento de las plúmulas se realizó a los 7 d posteriores de efectuada la prueba. Para la longitud de la plúmula se tomó como base a partir de la intersección raíz-mesocótilo hasta el ápice del coleóptilo, reportando los datos en cm. El diámetro de la plúmula se realizó con la ayuda de un vernier digital Digital Caliper ± 0.001 mm. La medición se realizó en la intersección mesocótilo-coleóptilo y se reportaron los datos en mm.

5.8.3 Longitud de la raíz y número de raíces secundarias

Se midió la longitud de la raíz principal de las plántulas tomando como base la inserción de la raíz con la semilla hasta el ápice de la misma, y expresando los datos en cm. Así también, se cuantificó el número de raíces secundarias que promovió cada plántula y se reportó el dato como el número promedio.

5.8.4 Análisis FTIR-ATR (raíz y plúmula)

Con la finalidad de identificar los grupos funcionales y la inferencia de los compuestos respectivos en el tejido de las plántulas de cada tratamiento, se

procedió conforme a la metodología de Estrada-Urbina *et al.* (2018). Para ello, el tejido seco de 7 d de la plúmula y de la raíz fue macerado y analizado mediante la espectroscopia FTIR-ATR previamente descrita, en un rango de 400-4000 cm^{-1} . Las áreas de las principales bandas del espectro IR fueron calculadas mediante el software Spectrum 10.4.2.

5.9 Diseño experimental y análisis estadístico

El estudio se ejecutó bajo un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos y cuatro repeticiones. Se efectuó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha= 0.05$) para el análisis de las variables expresadas en porcentajes y los análisis de varianza (ANDEVA) empleando la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$) para las variables referentes al vigor de la plántula. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización de las ZnO NPs

6.1.1 Propiedades ópticas de ultravioleta visible y de reflectancia difusa

La espectroscopia de UV-visible de absorción es usada ampliamente como una técnica para examinar las propiedades ópticas de óxidos metálicos a nanoescala. El espectro de absorción de las ZnO NPs sintetizadas (Figura 3) revela el pico característico del ZnO a nanoescala, a una longitud de onda de 376 nm (Zak *et al.*, 2011), lo que indica la naturaleza monodispersa de la distribución de las NPs. No se observaron otros picos en el espectro, lo que confirma que el producto sintetizado es solamente ZnO en la fase hexagonal de la wurtzita.

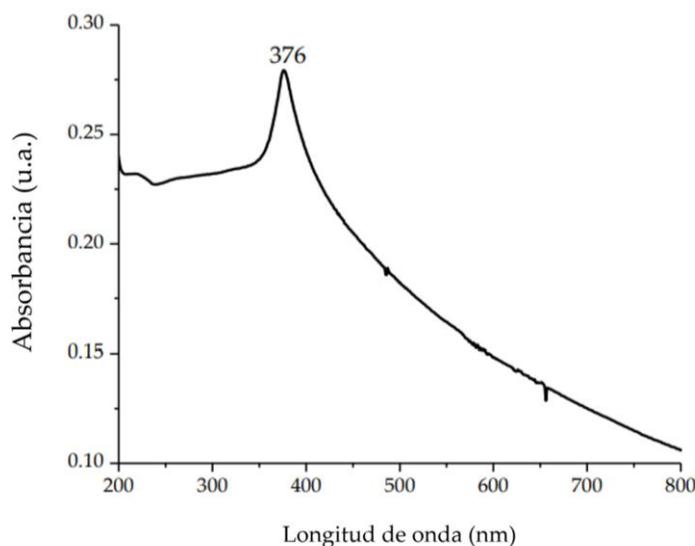


Figura 3. Espectro de absorción UV-Vis de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.

El espectro de la reflectancia difusa (Figura 4a) muestra una fuerte disminución alrededor de los 450 nm, que puede relacionarse a la banda-gap debido a la

transición de los electrones que se mueven de la banda de valencia a la banda de conducción.

Igualmente, la energía de la banda gap se estimó de acuerdo con la función de Kubelka-Munk ($[F(R)hv]^2$) frente a la energía del fotón ($h\nu$), teniendo como resultado un valor estimado de 3.21 eV de la banda gap de las ZnO NPs (Figura 4b).

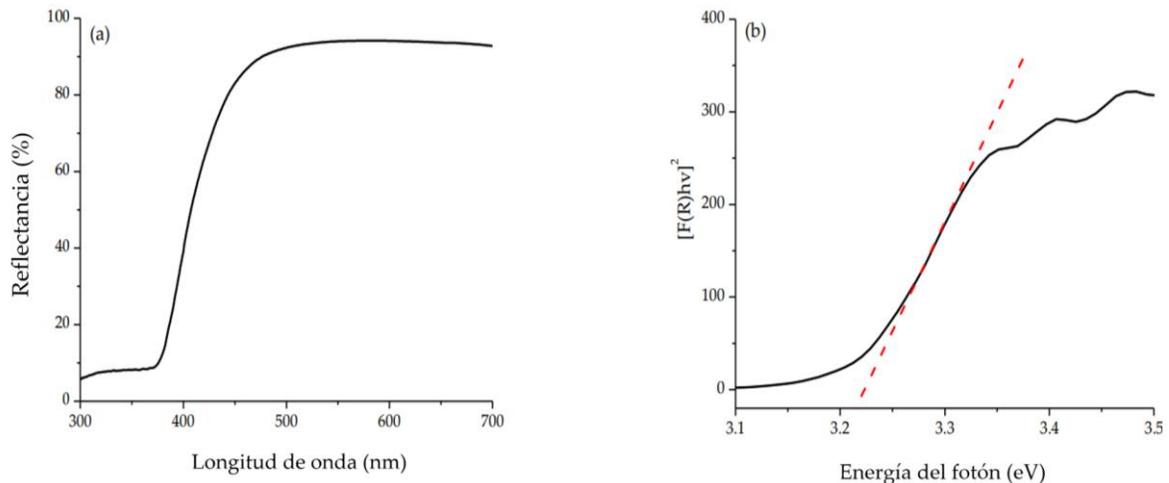


Figura 4. (a) Espectro de reflectancia difusa, y (b) Espectro de reflectancia de las nanopartículas de ZnO sintetizadas, transformado por la función de Kubelka-Munk.

Este resultado es similar con lo reportado por Khorsand *et al.* (2013), quienes encontraron un valor de banda gap de 3.28 eV para nanopartículas de ZnO cuasi-esféricas, calcinadas a 600 °C.

El espectro de fluorescencia de las ZnO NPs (Figura 5) se determinó en una suspensión acuosa a una longitud de onda de excitación de 325 nm. En el espectro se observaron los cuatro picos de emisión característicos del ZnO nanométrico en estado puro, a longitudes de onda de 422 nm, 445 nm, 485 nm, y 527 nm.

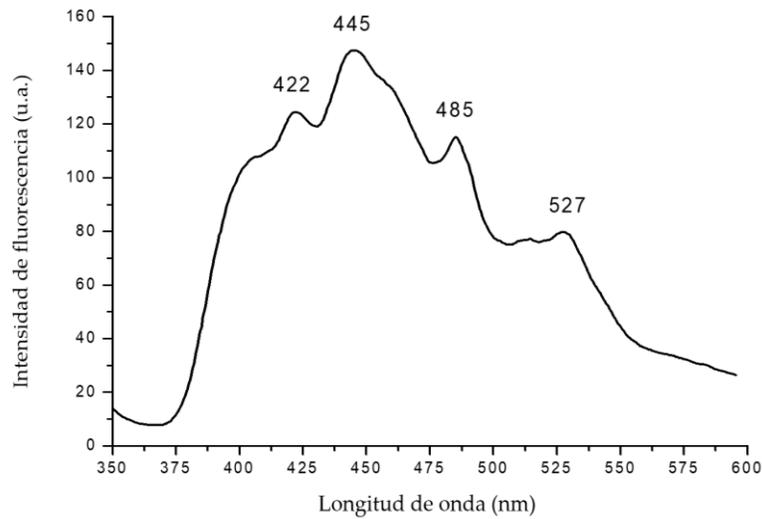


Figura 5. Espectro de emisión de fluorescencia de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.

En este estudio, el pico de emisión azul a 422 nm se atribuye a la formación de defectos intersticiales del Zn, la emisión azul a 445 y 485 nm puede ser el resultado de la transición de los electrones desde el nivel de las vacancias de oxígeno ionizado a la banda de valencia, y la fluorescencia verde a 527 nm puede atribuirse a los defectos antisitio. Estos resultados son similares con lo reportado por Hernández-Meléndez *et al.* (2010) quienes encontraron los picos de emisión característicos, a longitudes de onda de 423 nm, 445 nm, 485 nm y 527 nm en una suspensión acuosa, a una longitud de onda de excitación de 325 nm, en nanopartículas de ZnO.

Comúnmente se considera que la emisión del borde de banda que se encuentra en un rango de los 400 nm, debe atribuirse a la recombinación de excitones (Vanheusden *et al.*, 1996), y que la emisión verde a los 422 nm, corresponde a las vacancias de oxígeno ionizado del ZnO, resultante de la recombinación de una

abertura generada por fotones con el único estado de carga ionizado de este defecto (Monticone *et al.*, 1998). La emisión azul-verde puede ser el resultado de la transición de los electrones desde el nivel de las vacancias de oxígeno ionizado a la banda de valencia a los 445 y 485 nm (Monticone *et al.*, 1998; Yadav *et al.*, 2008; Hernández Meléndez *et al.*, 2018).

6.1.2 Morfología de las nanopartículas de ZnO

La microscopía de transmisión electrónica (TEM) permite visualizar directamente la estructura y el tamaño de una o de un conjunto de nanopartículas. Además, permite conocer la distribución de tamaño y la dispersión de las nanopartículas.

En la Figura 6 se muestra la morfología y el tamaño de las ZnO NPs sintetizadas. Se puede observar de manera clara que las partículas tienen un rango estrecho en lo referente a su diámetro y presentan una forma cuasi-esférica.

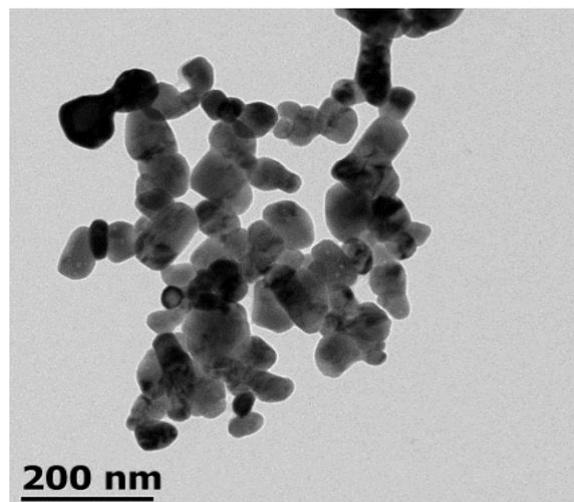


Figura 6. Imagen ilustrativa del TEM de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.

Esta gama de tamaños de partícula puede ser el resultado de la nucleación dependiente del tiempo y del crecimiento de las nanopartículas durante la síntesis.

6.1.3 Distribución del tamaño y concentración de las partículas usando análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA)

La distribución del tamaño de las ZnO NPs sintetizadas (Figura 7) indicó una distribución relativamente amplia (76-334 nm). El tamaño promedio de las partículas y el valor de la moda calculados a partir del NTA fueron de 180 nm y 124 nm, respectivamente. No obstante, se encontraron también dos poblaciones menores con diámetros mayores (180 nm y 334 nm).

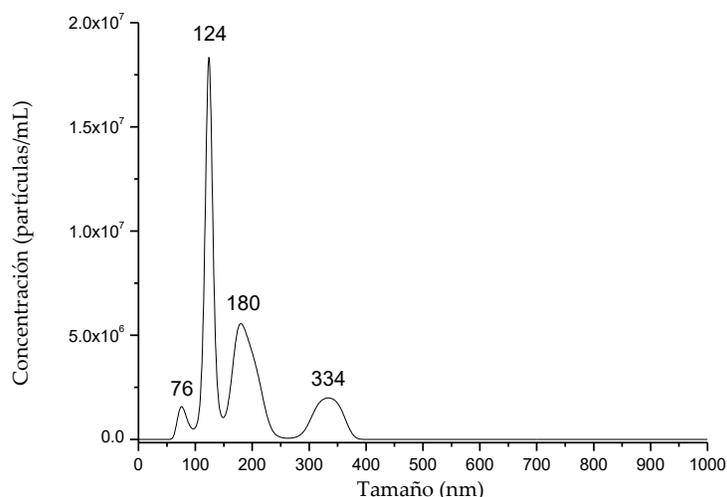


Figura 7. Distribución del tamaño y concentración de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.

Es bien sabido que la dispersión de luz dinámica permite relacionar el desplazamiento aleatorio de las partículas con el diámetro hidrodinámico de éstas. Este diámetro dependerá de la fuerza iónica del medio, de la concentración de la disolución, de la temperatura, y de su índice de refracción. En medios de elevada fuerza iónica, el tamaño obtenido es menor al real de la nanopartícula, mientras que en medios de baja fuerza iónica se obtienen valores del diámetro de partícula mayores (Llinas y Sánchez-García, 2013). En este sentido, las partículas con un

gran diámetro hidrodinámico podrían deberse a la formación de agregados a partir de partículas primarias en la suspensión (Wagner *et al.*, 2016).

En cuanto a la concentración de las partículas, la preparación de ZnO NPs presentó 7.7×10^8 partículas/mL. En consecuencia, cada semilla de maíz tuvo aproximadamente 7.7×10^9 partículas.

6.1.4 Análisis FTIR-ATR de las nanopartículas de ZnO

El espectro FTIR de las ZnO NPs calcinadas a 600 °C se puede apreciar en la Figura 8. En el espectro se observó una banda ancha alrededor de los 391 cm^{-1} que se atribuyó al modo de vibración Zn-O. Este resultado es similar a lo reportado por Khorsand *et al.* (2013) quienes observaron una banda de absorción a los 410 cm^{-1} correspondiente a la forma hexagonal del ZnO. Se encontró también en el espectro una banda de absorción a 1440 cm^{-1} , que puede estar relacionada con el C-O y, por lo tanto, puede ser desechada.

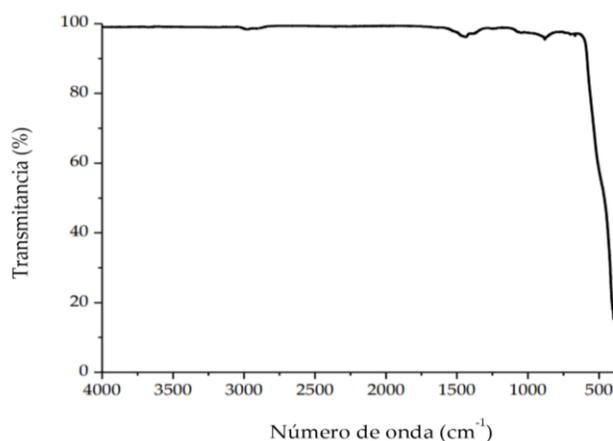


Figura 8. Espectro típico de FTIR-ATR de las nanopartículas de ZnO sintetizadas.

6.2 Vigor de la semilla

6.2.1 Calidad fisiológica

En el presente estudio se encontró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en el porcentaje de germinación tanto en la prueba de germinación estándar (GE) como en el envejecimiento acelerado (EA). Las semillas tratadas con el recubrimiento conteniendo las ZnO NPs mostraron una germinación del 97% en la prueba de GE, en contraste con las semillas del grupo Control y del grupo SC cuyo valor fue del 80% y 83%, respectivamente (Tabla 1), pudiendo observarse en la Figura 9 la germinación de las semillas de cada tratamiento.

Tabla 1. Efecto de las ZnO NPs en la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas de maíz durante las pruebas de germinación estándar (GE) y de envejecimiento acelerado (EA).

Tratamiento	Germinación (%)		Contaminación (%)	
	GE	EA	GE	EA
Control	80 ± 3.5 ^a	68 ± 3.5 ^a	70 ± 3.6 ^a	45 ± 5.3 ^a
SC	83 ± 2.5 ^a	80 ± 2.5 ^{ab}	58 ± 3.1 ^a	40 ± 4.8 ^a
ZnO NPs	97 ± 2.5 ^b	90 ± 3.3 ^b	37 ± 4.2 ^b	8 ± 2.4 ^b

Medias con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferentes (Kruskal-Wallis $p < 0.05$). Valor promedio ± error estándar.

En la prueba del EA, el grupo Control presentó el menor porcentaje de germinación (68%) cuando se comparó con el grupo de ZnO NPs, cuyo valor fue del 90%. No obstante, el recubrimiento con el almidón pareció mantener la germinación estándar de la semilla (80%). De este resultado se concluye que: a) el almidón gelatinizado mantuvo la germinación de la semilla cuando ésta se encontraba en condiciones desfavorables como las suscitadas en el EA, y b) las ZnO NPs tuvieron la capacidad de promover e incrementar el porcentaje de germinación de las semillas.

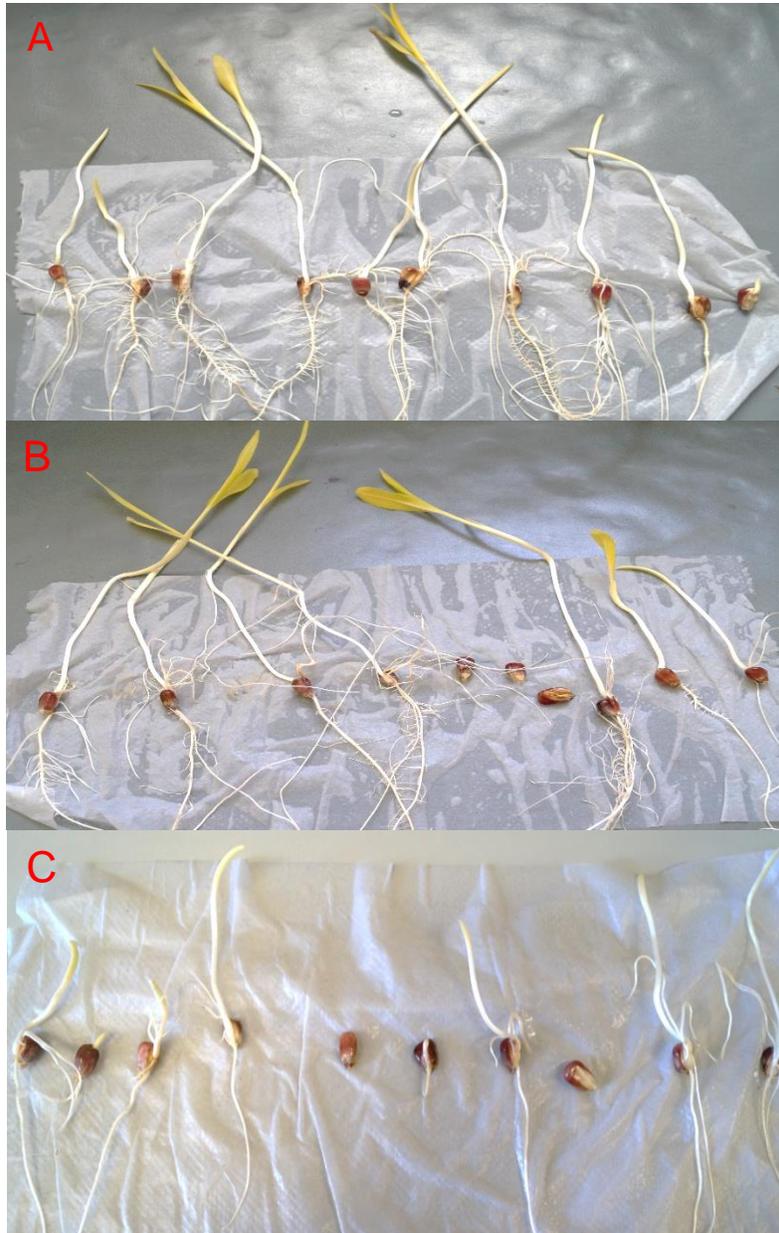


Figura 9. Comparación de la germinación en la prueba del envejecimiento acelerado (EA). (a) ZnO NPs, (b) Semilla cubierta, y (c) Control.

Adhikari *et al.*, (2016) reportaron un incremento en la germinación de las semillas de diversas especies (90-100%) cuando evaluaron la influencia de nanopartículas de ZnO (<100 nm) mediante un recubrimiento a la semilla, a un contenido de 25 mg Zn/g de semilla, en comparación con un grupo Control (80%).

De igual forma, trabajos desarrollados en diversas especies de plantas confirman que las ZnO NPs promueven la germinación y el crecimiento de las plántulas (Siddiqui *et al.*, 2015). Otros investigadores encontraron efectos positivos significativos en la germinación de las semillas de cacahuate y de frijol mungo con el uso de ZnO NPs en comparación con un grupo Control (Prasad *et al.*, 2012; Jayarambabu *et al.*, 2014). Por su parte, Pandey *et al.* (2010) encontraron efectos promisorios cuando estudiaron el efecto de las ZnO NPs en la germinación y la velocidad de crecimiento del garbanzo.

En esta investigación, la germinación de la semilla de maíz se vio favorecida por las ZnO NPs en ambas pruebas, siendo más notorio el resultado en el EA, por lo que las ZnO NPs desarrollaron un papel importante en la germinación debido que el Zn es un metal que se encuentra presente en las clases de enzimas oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, ligasas e isomerasas (Auld, 2001), por tanto, se sugiere que la presencia del Zn en escala nanométrica tiene una función muy importante como cofactor de las enzimas involucradas en el proceso de la germinación (Pandey *et al.*, 2010), el cual a su vez está implicado en la síntesis de las proteínas, los carbohidratos, los lípidos, y los ácidos nucleicos (Tarafdar *et al.*, 2014). En este sentido, la prueba del EA se ha desarrollado para la evaluación de la calidad fisiológica de las semillas mediante la determinación del vigor debido a la dificultad que se presenta el estudiar el efecto del deterioro de las semillas por periodos largos de almacenamiento. Los resultados reportados en el este estudio indicaron que el recubrimiento con almidón de maíz gelatinizado conteniendo las ZnO NPs desempeñó una doble función en la germinación de las semillas de una

raza de maíz nativo: 1) el recubrimiento con almidón fungió como una capa protectora a la semilla evitando un deterioro avanzado cuando ésta se encontró bajo las condiciones del estrés abiótico; y 2) el Zn se relacionó en la protección y el mantenimiento de la estabilidad estructural de las membranas celulares, así como en la síntesis de las proteínas, y una tolerancia al estrés debido a las condiciones del ambiente. No obstante, no hay estudios que comprueben la capacidad protectora del almidón y de las ZnO NPs a la semilla mediante un recubrimiento, por lo que esta investigación puede ser considerada pionera para este tipo de evaluaciones en la determinación del vigor de las semillas.

6.2.2 Calidad sanitaria

En lo que respecta a la calidad sanitaria, se encontró una contaminación microbiológica en la semilla principalmente por los hongos de los géneros *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., y *Trichoderma* spp (Figura 10).

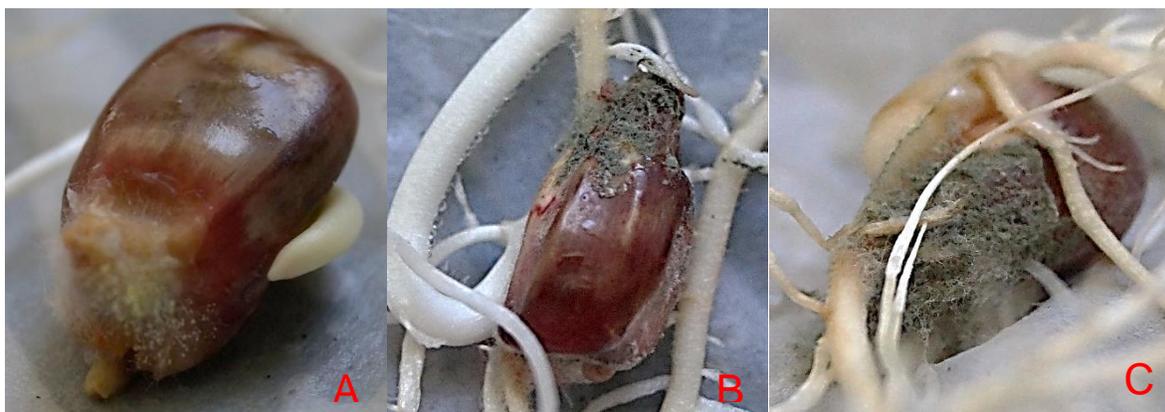


Figura 10. Comparación de la contaminación microbiológica en la semilla de maíz durante la prueba de germinación estándar. (a) ZnO NPs, (b) Semilla cubierta, y (c) Control.

Se observó que las ZnO NPs protegieron a la semilla contra algunos patógenos tanto en la prueba de GE como en el EA, por lo que en estos tratamientos se

presentó un porcentaje de contaminación microbiológica menor (23%), en contraste con el grupo Control (58%), lo que pone en evidencia la capacidad anti fúngica que tienen las nanopartículas colocándolas así como una alternativa al uso de fungicidas sintéticos, disminuyendo de esta forma el impacto negativo que éstos generan para el ambiente.

De igual forma se ha encontrado que las ZnO NPs poseen actividad fuertemente anti fúngica y bactericida a bajas concentraciones sin afectar la fertilidad del suelo en comparación con los fungicidas tradicionales (Ruparelia *et al.*, 2008). El efecto biocida de las NPs frente a ciertos patógenos aún se desconoce; sin embargo, se ha visto que las ZnO NPs desestabilizan la membrana celular de las bacterias y de los hongos provocando modificaciones en la permeabilidad de la misma, una merma en el nivel de ATP que se refleja en una baja tasa de respiración, así como daños al ADN (Monge, 2009).

6.3 Vigor de la plántula

6.3.1 Longitud y diámetro de la plúmula

De igual forma se encontró un mayor vigor de la plántula con la incorporación de las ZnO NPs en el recubrimiento con almidón en la semilla de maíz (Figura 11).

Con relación a la longitud de la plúmula, en ambas pruebas de germinación, el grupo ZnO NPs presentó diferencia estadística significativa cuando se comparó con el grupo Control y el grupo SC (Tabla 2).

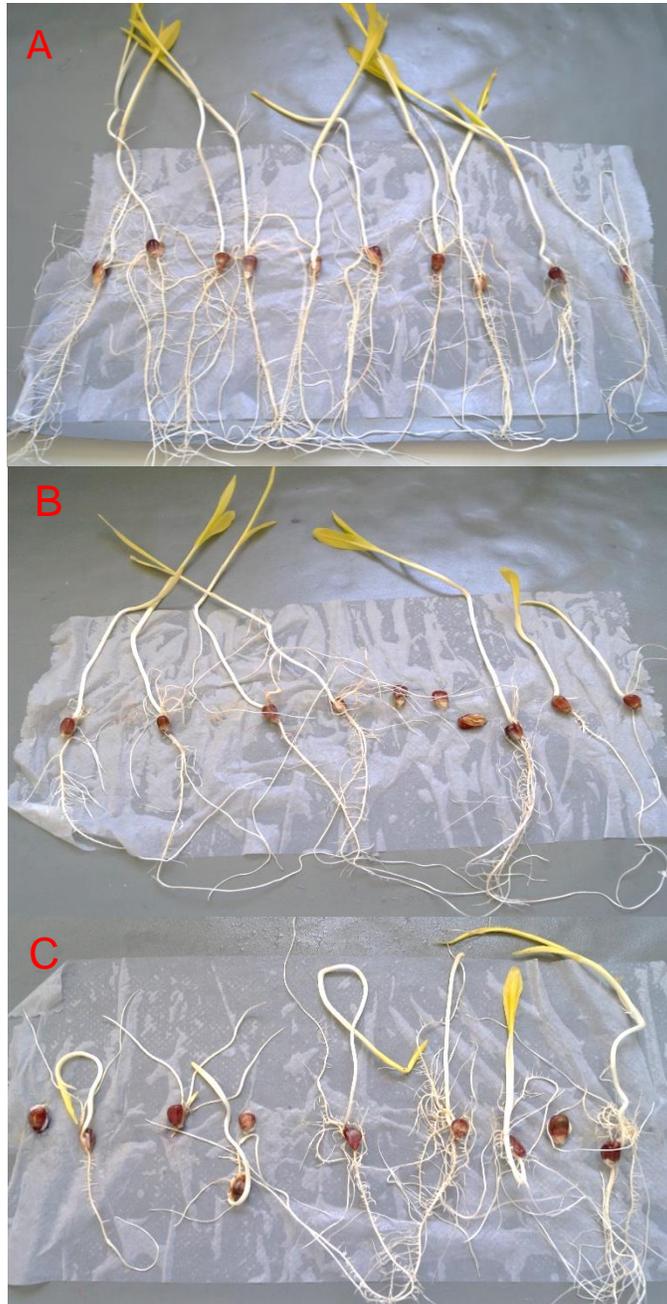


Figura 11. Comparación del vigor de la plántula de maíz a los 7 d. (a) ZnO NPs, (b) Semilla cubierta, y (c) Control.

Las plúmulas del grupo Control se mostraron raquílicas debido que presentaron la menor longitud (12.75 cm y 8.05 cm) y el menor diámetro (2.78 mm y 1.55 mm) de manera correspondiente en la GE y en el EA; a diferencia de las plúmulas del tratamiento con ZnO NPs que exhibieron valores de 14.37 cm y 11.09 cm para la

longitud, y de 3.41 mm y 1.97 mm para el diámetro. Consecuentemente, las plúmulas del tratamiento con ZnO NPs fueron las más vigorosas.

Este efecto puede relacionarse a la actividad que tiene el Zn como precursor en la producción de auxinas, las cuales promueven la elongación y la división celular (Rehman *et al.*, 2012). Diversos reportes indican que las ZnO NPs incrementan el nivel de AIA en las raíces y en los brotes apicales, promoviendo de esta forma la velocidad de crecimiento de las plantas (Shyla y Natarajan, 2014). En otros estudios, varios investigadores encontraron que las plúmulas presentaron mayor vigor cuando las semillas fueron inmersas en suspensiones conteniendo ZnO NPs, en contraste con aquellas que no fueron inmersas (Prasad *et al.*, 2012; Estrada-Urbina *et al.*, 2018).

En este estudio se consideró el diámetro de la plúmula para definir de manera más estricta el vigor de la plántula, puesto que se infiere que el diámetro de la plúmula influye de manera directa en el diámetro del tallo, que es una característica de suma relevancia al evaluar plantas de maíz, ya que una planta con tallo delgado tendrá una mayor probabilidad de sufrir acame, ocasionando pérdidas significativas en el cultivo.

5.3.2 Longitud de la raíz y número de raíces secundarias

Las plántulas del tratamiento ZnO NPs presentaron un efecto superior y significativo en la prueba de GE y en el EA en lo que concierne a la longitud de la raíz y al número de raíces secundarias producidas (Tabla 2, Figura 11).

En este sentido, el crecimiento de las estructuras de soporte (raíces) de las plántulas evaluadas fue estimulado cuando se incorporó a la semilla ZnO de tamaño nanométrico, obteniendo una longitud promedio de 20.32 cm y 17.93 cm en la prueba de GE y en el EA, respectivamente. Mientras que el grupo Control, presentó valores de 16.23 cm y 14.96 cm en las pruebas referidas anteriormente.

De manera adicional, las plántulas del grupo ZnO NPs exhibieron diferencia estadística en la prueba de GE y en el EA en lo que respecta al desarrollo de las raíces secundarias. En ambas pruebas, las plántulas del grupo ZnO NPs mostraron el valor más alto de raíces producidas con 3.36 y 3.0, correspondientemente, en contraste con el grupo Control, cuyos promedios fueron de 2.6 y 1.63, respectivamente. Este resultado puede estar relacionado a una mayor producción de auxinas, las cuales estimulan la división celular para la formación de las raíces laterales (Jordán y Casaretto, 2006). Se precisa que el desarrollo de las raíces secundarias es un aspecto importante, puesto que, entre más raíces tenga una planta, mayores posibilidades tendrá de absorber los nutrientes que necesita así como un mejor anclaje en el suelo, lo que se traducirá en un mayor vigor. Por ello, la cuantificación del número de raíces laterales fue un aspecto importante que se consideró en la evaluación del vigor de la plántula.

Del mismo modo, Shah y Belozerova (2009) encontraron un incremento significativo en la longitud de la raíz en comparación con un grupo control cuando analizaron la influencia de las nanopartículas metálicas (silicio, paladio, oro y cobre) en la germinación de semillas de lechuga.

Al respecto, no hay suficiente información sobre el empleo de nanopartículas de ZnO en la calidad fisiológica de las semillas de maíz; sin embargo, Prasad *et al.* (2012) y Jayarambabu *et al.* (2014), reportaron una mayor longitud radicular con la aplicación de nanopartículas de ZnO en comparación con un tratamiento Control en semillas de diversas especies.

Tabla 2. Efecto de las ZnO NPs en el vigor de la plántula de maíz en la prueba de germinación estándar (GE) y en el envejecimiento acelerado (EA).

Tratamiento	Longitud (cm)		Diámetro (mm)		
	GE	EA	GE	EA	
Plúmula	Control	12.75 ± 0.4 ^a	8.1 ± 0.5 ^a	2.78 ± 0.1 ^a	1.55 ± 0.1 ^a
	SC	13.48 ± 0.4 ^{ab}	9.5 ± 0.4 ^{ab}	3.12 ± 0.1 ^b	1.72 ± 0.1 ^{ab}
	ZnO NPs	14.37 ± 0.5 ^b	11.1 ± 0.6 ^b	3.41 ± 0.1 ^c	1.97 ± 0.1 ^b
Raíz	Longitud (cm)		Raíces secundarias (No.)		
	GE	EA	GE	EA	
Raíz	Control	16.2 ± 0.7 ^a	14.9 ± 0.5 ^a	2.60 ± 0.1 ^a	1.63 ± 0.1 ^a
	SC	20.3 ± 0.6 ^b	16.6 ± 0.5 ^{ab}	3.31 ± 0.1 ^b	2.95 ± 0.2 ^b
	ZnO NPs	20.3 ± 0.6 ^b	17.9 ± 0.6 ^b	3.36 ± 0.1 ^b	3.00 ± 0.1 ^b

Medias con diferente letra en la misma columna son estadísticamente diferente (Tukey $p < 0.05$). Valor promedio ± error estándar.

6.4 Análisis FTIR-ATR

Las bandas de la espectroscopia FTIR-ATR para la raíz y la parte aérea de la plántula de maíz se muestran en la Tabla 3 y sus espectros correspondientes en la Figura 12. Las bandas obtenidas concuerdan con lo reportado en la literatura para el análisis de tejido vegetal (Dokken and Davis, 2007; Morales *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2013; Suresh *et al.*, 2016a; Suresh *et al.*, 2016b). La vibración encontrada en un rango de 3260-3180 cm^{-1} (banda A) es asignada a un estiramiento simétrico/asimétrico de N-H en las amidas primarias, los aminoácidos, y las proteínas. Se encontró también un estiramiento C-H simétrico/asimétrico en $\sim 2920 \text{ cm}^{-1}$ (banda B), la cual corresponde a los lípidos, con excepción del Control en cuyo tratamiento no se observaron dichas vibraciones.

Adicionalmente, estiramientos de tipo $\text{N}\equiv\text{N}$ respectivos de aminas primarias fueron observados en un rango de 2360-2340 cm^{-1} (banda C). Diversos compuestos como la lignina, las proteínas, los lípidos, y los polisacáridos fueron encontrados en una banda en $\sim 1590 \text{ cm}^{-1}$ (banda D). Una flexión simétrica de C-H se encontró en $\sim 1370 \text{ cm}^{-1}$ correspondiendo de manera principal a los lípidos, así como también a los polisacáridos y a la celulosa (banda E). La banda F en $\sim 1249 \text{ cm}^{-1}$ corresponde a una deformación asimétrica C-O-H perteneciente a la banda diagnóstica de la celulosa y de la hemicelulosa, mientras que lo conveniente a la banda G en el rango de 1200-900 cm^{-1} fue característica de un estiramiento/flexión de C-O-H de los carbohidratos. Finalmente, se encontró una flexión en C-C=O respectiva de los ácidos carboxílicos en la región de los 550 cm^{-1} (banda H).

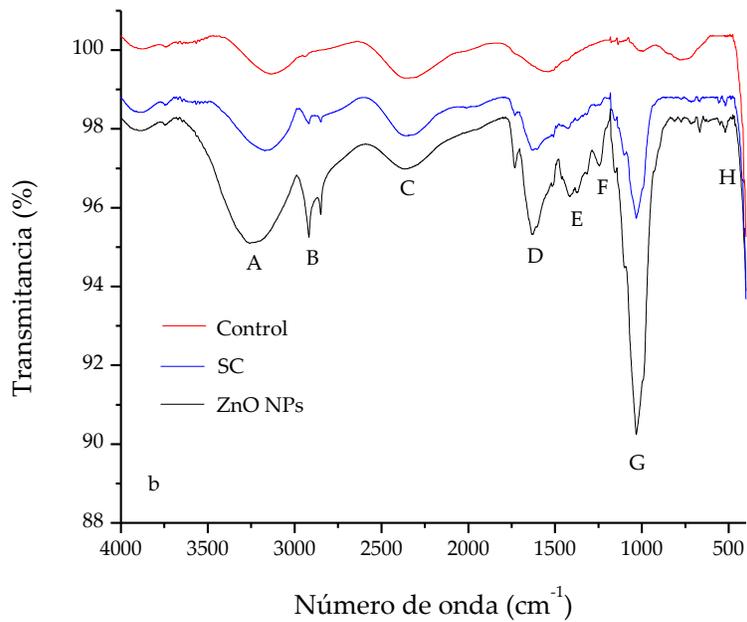
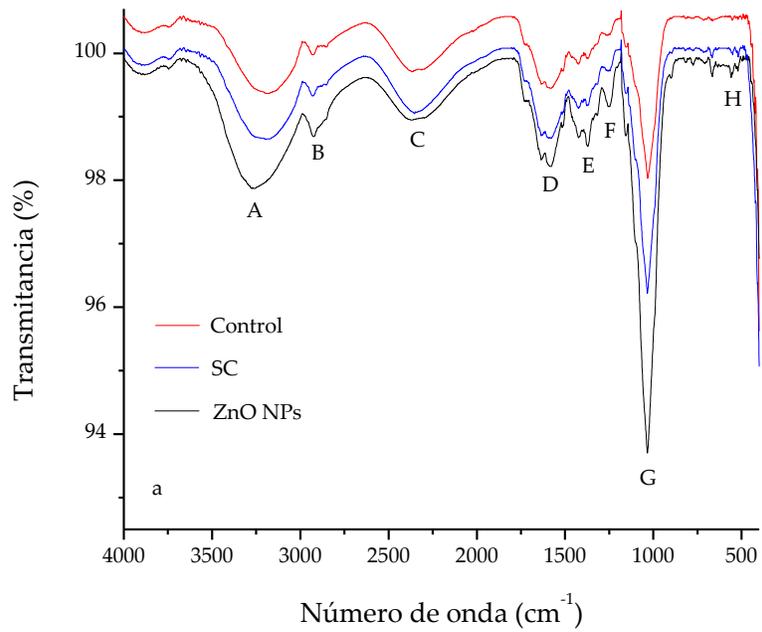


Figura 12. Espectro FTIR del tejido de la plántula de maíz. (a) Raíz, y (b) Plúmula.

Tabla. 3 Asignaciones de las bandas de las principales vibraciones activas presentes en los espectros FTIR-ATR de la plúmula y de la raíz de la plántula de maíz.

Banda	Número de onda (cm ⁻¹)						Grupo funcional y componente comúnmente asignado
	Raíz			Plúmula			
	ZnO NPs	Control	SC	ZnO NPs	Control	SC	
A	3253	3168	3190	3244	3127	3189	Vibración de estiramiento N-H (péptidos y proteínas).
B	2920	2926	2926	2920	-	2915	Estiramiento simétrico/asimétrico de C-H (lípidos).
C	2341	2337	2343	2366	2359	2354	Estiramiento N≡N, en aminas primarias.
D	1582	1579	1579	1630	-	1627	Estiramiento aromático C=C (lignina).
E	1367	1375	1364	1410	-	-	Flexión C-H simétrica de -(CH ₃)n- -(CH ₂)n- (lípidos, polisacáridos y celulosa).
F	1249	-	1250	1243	-	-	Deformación asimétrica C-O-H (hemicelulosa y celulosa).
G	1037	1033	1034	1032	-	1036	Estiramiento C-O/flexión C-O de C-O-H (carbohidratos).
H	555	551	553	551	-	555	Flexión C-C=O en ácidos carboxílicos.

Estos resultados conciernen con el estado juvenil de la planta, por tal motivo, la presencia de los carbohidratos fue mayor. No obstante, el incremento en la producción de las proteínas en el tejido de la parte aérea puede estar relacionado con una mayor actividad enzimática debido al Zn. En el mismo sentido, la presencia del Zn en escala nanométrica promovió una mayor producción de las proteínas, los lípidos, los carbohidratos, y la celulosa en el tejido de la parte aérea, en comparación con el grupo Control, cuyos componentes no se presentaron, tal es el caso de la banda F referente a la celulosa y la hemicelulosa que no se expresó en ambos tejidos de las plántulas del grupo Control, por lo que de manera incuestionable se observó que las ZnO NPs afectaron de manera positiva la producción de moléculas estructurales en el tejido vegetal, resultando en un buen desarrollo de la plántula.

Actualmente, la espectroscopia FTIR es empleada para estudiar componentes de manera individual o para la estructura de la biomasa (Xu *et al.*, 2013). Reportes indican que mediante esta técnica se ha determinado la presencia de celulosa y de pectina en la pared celular de la cebolla (McCann *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 1997).

La técnica de FTIR-ATR resultó ser una alternativa no destructiva para la identificación de los grupos funcionales y la inferencia posterior de las biomoléculas y/o compuestos respectivos que se encuentren presentes en el tejido vegetal. Los resultados del FTIR-ATR del tejido de la raíz y de la parte aérea, sugieren que las ZnO NPs tuvieron un efecto considerable cuando las semillas fueron inmersas en una suspensión con nanopartículas, por lo que se observó un incremento evidente en la producción de los carbohidratos, las proteínas, y los lípidos, así como también de los constituyentes estructurales como la lignina, la celulosa, y la hemicelulosa.

Los datos del área de las bandas (Tabla 4) del tejido de la raíz y de la parte aérea de la plántula de maíz demuestran una diferencia en el contenido de los grupos funcionales de las proteínas (3260-3180 cm^{-1}), la lignina ($\sim 1590 \text{ cm}^{-1}$), y los carbohidratos (1200-900 cm^{-1}), entre las plántulas del tratamiento con ZnO NPs con relación a las plántulas del grupo Control. De esto se evidencia que el Zn juega un papel sustancial en las plantas, por lo que su aplicación resulta en efectos positivos en el crecimiento y el desarrollo de las mismas.

Tabla 4. Área de la banda del espectro FTIR-ATR del tejido de la raíz y de la plúmula en las plántulas de maíz.

Banda	Área de la banda (u.a.)					
	Raíz			Plúmula		
	ZnO NPs	Control	SC	ZnO NPs	Control	SC
A	513	249	313	637	104	302
B	37	10	9	108	0	17
C	230	203	210	152	172	138
D	136	90	102	350	88	147
E	90	14	24	125	0	10
F	21	0	8	43	0	0
G	714	308	466	1140	21	385
H	3	1	1	9	0	3

VII. CONCLUSIONES

Se logró la síntesis de ZnO NPs mediante un método sencillo de precipitación empleando nitrato de zinc e hidróxido de sodio. La caracterización de las nanopartículas se efectuó con técnicas de espectroscopia de ultravioleta visible (UV-Vis), de reflectancia difusa (UV-Vis DRS), de infrarrojo con transformada de Fourier con reflexión total atenuada (FTIR-ATR), de fluorescencia, y por microscopia electrónica de transmisión (TEM). El análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA) demostró ser una técnica para la determinación de la concentración y de la cantidad de partículas empleadas en este estudio, por lo que esta investigación se muestra pionera en lo respectivo a esta técnica. Referente a la calidad de la semilla, las ZnO NPs ejercieron un efecto positivo en la germinación, brindando un mayor vigor a la plántula y mejorando la producción de las biomoléculas estructurales. De igual forma, se encontró que el uso de ZnO NPs mejoró de manera evidente algunas variables de importancia agronómica en la semilla de maíz como son la longitud de la plúmula, el diámetro de la plúmula, la longitud de la raíz, y el número de raíces secundarias. No obstante, a pesar de que las aplicaciones de la nanotecnología son abundantes, en el sector agrícola aún está limitada, por lo que se recomienda realizar más estudios sobre el uso de ZnO NPs en la evaluación de la calidad de la semilla, así como en el crecimiento y el desarrollo de los cultivos agrícolas, de manera especial, en los maíces nativos, los cuales, además de ser parte del patrimonio biocultural de México, son el sustento de miles de familias en zonas rurales, por lo que la protección y la conservación del germoplasma mexicano resulta fundamental.

VIII. LITERATURA CITADA

- Adhikari, T., Kundu, S., & Rao, A. S. (2016). Zinc delivery to plants through seed coating with nano-zinc oxide particles. *Journal of Plant Nutrition*, 39(1), 136-146.
- Adhikari, T., Kundu, S., A. K. Biswas, J. C. Tarafdar and A. Subba Rao. (2015). Characterization of Zinc Oxide Nano Particles and Their Effect on Growth of Maize (*Zea mays* L.) *Plant. Journal of Plant Nutrition*, 38:1, 1505-1515,
- Aguayo-Rojas, J., Mora-Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E. O., Serna-Saldivar, S. O., Gutiérrez-Urbe, J. A., Reyes-Moreno, C., and Milán-Carrillo, J. (2012). Phytochemicals and antioxidant capacity of tortillas obtained after Lime-Cooking Extrusion Process of whole pigmented Mexican Maize. *Plant Foods for Human Nutrition*. 67:178-185.
- Ali, M. A., Rehman, I., Iqbal, A., Din, S., Rao, A. Q., Latif, A., Samiulla, T. R., Azam, S., and Husnain, T. (2014). Nanotechnology applied in Agriculture: Controlled Release of Agrochemicals. In: *Nanotechnologies in Food and Agriculture*. Springer International Publishing. Pp. 103-118.
- Alkauskas, A., and Pasquarello, A. (2011). Band-edge problem in the theoretical determination of defect energy levels: The O vacancy in ZnO as a benchmark case. *Physical Review B*. 84 (12), 125206.
- Ashar, A., Iqbal, M., Bhatti, I. A., Ahmad, M. Z., Qureshi, K., Nisar, J., Bukhari, I. H. (2016). Synthesis, characterization and photocatalytic activity of ZnO flower and pseudo-sphere: Nonylphenol ethoxylate degradation under UV and solar irradiation. *Journal of Alloys and Compounds*. 678, 126-136.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA). Rules for Testing Seeds. *Journal of Seed Technology*. 1993, 16, 1–113.
- Auld, D. S. (2001). Zinc coordination sphere in biochemical zinc sites. *Biometals* 14: 271–313.
- Azam, A., Ahmed, F., Arshi, N., Chaman, M., Naqvi, A. (2010). Formation and characterization of ZnO nanopowder synthesized by sol–gel method. *Journal of Alloys and Compounds*. 496 (1-2), 399-402.
- Beadle, G. W. (1939). Teosinte and the origin of maize. *Journal of Heredity*. 30: 245-247.
- Beadle, G. W. (1978). Teosinte and the origin of maize. In D.B. Walden, ed. *Maize breeding and genetics*, p. 113-128. New York, NY, USA, J. Wiley & Sons.

- Beadle, G. W. (1980). The ancestry of corn. *Scientific American*. 242: 112-119.
- Braconnier, B., Páez, C. A., Lambert, S., Alié, C., Henrist, C., Poelman, D., Pirard, J. P., Cloots, R., Heinrichs, B. (2009). Ag-and SiO₂-doped porous TiO₂ with enhanced thermal stability. *Microporous and Mesoporous Materials*. 122: 247–254.
- Brayner, R., Dahoumane, S. A., Yéprémian, C., Djediat, C., Meyer, M., Couté, A., Fiévet, F. (2010). ZnO nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. *Langmuir*. 26 (9), 6522-6528.
- Castellanos, J. Z., Díaz, D., Santiago, J. D. (2014). Realidades del Zinc (Zn) en los Suelos de México. *Hojas Técnicas de Fertilab*, México, 4 p.
- Chang, Y., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., and Xing, G. (2012). The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. *Materials*. 5(1):2850-2871.
- Chen, L., Wilson, R. H., McCann, M. C. (1997). Investigation of macromolecule orientation in dry and hydrated walls of single onion epidermal cells by FTIR microspectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 408, 257-260.
- Coutiño-Estrada, B., Vidal-Martínez, V. A., Cruz-Gómez, B., Cruz-Vázquez, C. (2010). Aptitud combinatoria general y específica del contenido de azúcares en maíces criollos eloteros. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 33:57-61.
- Dimkpa, C. O., Mclean, J. E., Britt, D. W., and Anderson, A. J. (2015). Nano CuO and interaction with nano-ZnO or soil bacterium provide evidence for the interference of nanoparticles in metal nutrition of plants. *Ecotoxicology*. 24(1):119-129.
- Doebley, J. (1990). Molecular evidence and the evolution of maize. *Economic Botany*. 44: 6-27.
- Dokken, K. M., and Davis, L. C. (2007). Infrared imaging of sunflower and maize root anatomy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26), 10517-10530.
- Dowswell, C. R., Paliwal, R. L., and Cantrell, R. P. (1996). Maize in the third world. Boulder, CO, USA, Westview Press.
- Estrada-Urbina, J., Cruz-Alonso, A., Santander-González, M., Méndez-Albores, A., Vázquez-Durán, A. (2018). Nanoscale Zinc Oxide Particles for Improving the Physiological and Sanitary Quality of a Mexican Landrace of Red Maize. *Nanomaterials*. 8, 247.
- Fang, T., Watson, J. L., Goodman, J., Dimkpa, C. O., Martineau, N., Das, S., McLean, J. E., Britt, D. W., and Anderson, A. J. (2013). Does doping with

- aluminium alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonas? *Microbiological Research*. 168(2):91-98.
- Faunce, T., Styring, S., Wasielewski, M. R., Brudvig, G. W., Rutherford, A. W., Johannes, M., Lee, A. F., and Hill, C. L. (2013). Artificial photosynthesis as a frontier technology for energy sustainability. *Energy and Environmental Science*. 6(4):1074-1076.
- Fernández, S. R., Morales, C. L. A., y Gálvez, M. A. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional: una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana*. Vol. 36 Supl. 3-A: 275 – 283.
- Galinat, W. C. (1988). The origin of corn. In G.F. Sprague & J.W. Dudley, eds. Corn and corn improvement, p. 1-31. Madison, WI, USA, American Society of Agronomy.
- Galinat, W. C. (1995). El origen del maíz: el grano de la humanidad - The origin of maize: grain of humanity. *Economic Botany*. 49: 3-12.
- Goodman, M. M. (1988). The history and evolution of maize. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 7: 197-220.
- Hartmann, H. T., y Kester, D. E. (1982). Propagación de Plantas y Principios Básicos. 3ª ed. CECSA. México, D. F. 814 p.
- Hellin, J., Keleman, A., Atlin, G. (2010). Smallholder Farmers and Maize in Mexico: A Value-Chain Approach to Improved Targeting of Crop-Breeding Programs. *Journal of New Seeds*. 11:262-280.
- Hernández-Meléndez, D., Salas-Téllez, E., Zavala-Franco, A., Téllez, G., Méndez-Albores, A., Vázquez-Durán, A. (2018). Inhibitory Effect of Flower-Shaped Zinc Oxide Nanostructures on the Growth and Aflatoxin Production of a Highly Toxigenic Strain of *Aspergillus flavus* Link. *Materials*. 11, 1265.
- Jayarambabu, N., Kumari, B. S., Rao, K. V., Prabhu, Y. T. (2014). Germination and Growth Characteristics of Mungbean Seeds (*Vigna radiate* L.) affected by synthesized Zinc Oxide Nanoparticles. *International Journal of Current Engineering and Technology*, 4:3411- 3416.
- Jordan, M., y Casaretto, J. (2006). Capítulo XVI Hormonas y reguladores del crecimiento: etileno, ácido abscísico, brasinoesteroides, poliaminas, ácido salicílico y ácido jasmónico; en F. A. Squeo and L. Cardemil (Eds), Fisiología vegetal. La Serena, CHILE: Ediciones Universidad de la Serena.

- Kardos, J., Jemnitz, K., Jablonkai, I., Bóta, A., Varga, Z., Visy, J., and Héja, L. (2014). The Janus Facet of Nanomaterials. *BioMed Research International*. Article ID317184.
- Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A., Bye, R. A. (2009). Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad. Editorial Impresora Apolo, S.A. de C.V. D.F., México. 116 p.
- Khorsand, Z. A., Abd, M. W. H., Mahmoudian, M.R., Darroudi, J., Yousefi, R. (2012). Starch-stabilized synthesis of ZnO nanopowders at low temperature and optical properties study. *Advanced Power Technology*, 24: 618-624.
- Khot, L. R., Sankaran, S., Maja, J. M., Ehsani, R., Schuster, E. W. (2012). Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Protection*. 35(1):64-70.
- Llinas, M. C., y Sánchez-García, D. (2013). Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. *AFINIDAD LXXI*, 565.
- López-Martínez, L. X., Olart-Ros, R. M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C. H., Parkin, K. L., García, H. S. (2009). Antioxidants activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT - Food Science and Technology*. 42:1187-1192.
- McCann, M. C., Hammouri, M., Wilson, R., Belton, P., and Roberts, K. (1992). Fourier transform infrared microspectroscopy is a new way to look at plant cell walls. *Plant Physiology*. 100(4), 1940-1947.
- Melgar, R., y M. Díaz-Zorita. (1997). La Fertilización de Cultivos y Pasturas. Ed. Hemisferio Sur S. A. Buenos Aires, Argentina, pp. 93-110.
- Mendoza, G. y Rodríguez-López, J. (2007). La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Perfiles Latinoamericanos*, [en línea] (29), pp.161-186. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=11502906>
- Mera-Ovando L M, y Mapes-Sánchez, C. (2009). El maíz. Aspectos biológicos. In: Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica. T A Kato, C Mapes, L M Mera, J A Serratos, R A Bye (eds). Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad. Editorial Impresora Apolo, S.A. de C.V. D.F., México. pp:19-32.
- Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*. 105(1): 33-41.

- Monticone, S., Tufeu, V., and Kanaev, A. V. (1998). Complex nature of the UV and visible fluorescence of colloidal ZnO nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry and Biophysics*. 102: 2854–2862.
- Morales, M. I., Rico, C. M., Hernandez-Viezcas, J. A., Nuñez, J. E., Barrios, A. C., Tafoya, A., and Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Toxicity assessment of cerium oxide nanoparticles in cilantro (*Coriandrum sativum* L.) plants grown in organic soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(26), 6224-6230.
- Mora-Rochín, S., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldívar, S. O., Sánchez-Peña, P., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented corns processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*. 52:502-508.
- Moreno, E. M. (1984). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). 380p.
- Muckhopadhyay, S. (2014). Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. *Journal of Nanotechnology Science and Applications*. 7(1): 63-71.
- Naderi, M. R., and Danesh-Shahraki, A. (2013). Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. *International Journal of Agriculture and Crops Sciences*. 5(19): 2229-2232.
- Páez, C. A., Poelman, D., Pirard, J. P., Heinrichs, B. (2010). Unpredictable photocatalytic ability of H₂-reduced rutile-TiO₂ xerogel in the degradation of dye-pollutants under UV and visible light irradiation. *Applied Catalysis B: Environmental*. 94: 263–271.
- 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(6): 448-497.
- Patel, N., Desai, P., Jha, A., and Gautam, H, K. (2014). Agrotechnology for plant fungal disease management. *International Journal Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(10): 71-84.
- Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja Reddy, K., Sreeprasad, T. S., Sajanlal, P. 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.

- 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 Sciences*. 3(2): 467-473.
- Rehman, H, U., Aziz, T., Farooq, M., Wakeel, A., Rengel, Z. (2012). Zinc nutrition in rice production systems: a review. *Plant and Soil*. 361 (1): 203-226.
- Ruparelia, J., Chatterjee, A., Duttagupta, S., Mukherji, S. (2008). Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia*. 4(3): 707-716.
- Sabir, S., Arshad, M., and Chaudhari, S, K. (2014). Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: Synthesis and applications. *The Scientific World Journal*. 2014 (1): 1-8.
- Salinas-Moreno, Y., Aragón-Cuevas, F., Ybarra-Moncada, C., Aguilar-Villarreal, J Altunar-López, B., Sosa-Montes, E. (2013). Caracterización física y composición química de razas de maíz de grano azul/morado de las regiones tropicales y subtropicales de Oaxaca. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 36:23-31.
- Salinas-Moreno Y, Cruz-Chávez, F. J., Díaz-Ortiz, S. A., Castillo-González, F. (2012). Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 35:33-41
- Scott, N., and Chen, H. (2013). Nanoscale Science and Engineering for Agriculture and Food Systems. *Industrial Biotechnology*. 9(1): 17-18.
- Shah V, Belozerova, I. (2009). Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds. *Water Air Soil Pollution*. 197: 143–148.
- 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(9): 1376-1381.
- Siddiqui, M. H., y Al-Whaibi, M. H. (2014). Role of nano-SiO in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* seeds Mill.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(1), 13-17.
- Suresh, S., Karthikeyan, S., & Jayamoorthy, K. (2016a). Spectral investigations to the effect of bulk and nano ZnO on peanut plant leaves. *Karbala International Journal of Modern Science* 2(2), 69-77.

- Suresh, S., Karthikeyan, S., & Jayamoorthy, K. (2016b). FTIR and multivariate analysis to study the effect of bulk and nano copper oxide on peanut plant leaves. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 1(3), 343-350.
- Tarafdar, J. C., Raliya, R., Mahawar, H., and Rathore, I. (2014). Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in Pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*. 3(3): 257-262.
- Torres-Morales, B., Coutiño-Estrada, B., Muñoz-Orozco, A., Santacruz-Varela, A., Mejía-Contreras, A., Serna-Saldivar, S. A., García-Lara, S., Palacios-Rojas, N. (2010). Selección para contenido de aceite en el grano de variedades de maíz de la raza comiteco de Chiapas, México. *Agrociencia*. 44:679-689.
- Turrent-Fernández, A., Wise, T. A., Garvey, E. (2012). Factibilidad de alcanzar el potencial productivo de maíz de México. *Mexican Rural Development Research Reports*. 24:1-36.
- Vanheusden, K., Warren, V., Seager, C. H., Tallant, D. R., Voigt, J. A., and Gnade, B. E. (1996). Mechanism behind green photoluminescence in ZnO phosphor powders, *Journal of Applied Physics*. 79: 7983–7990.
- Vanheusden, K., Warren, W., Seager, C., Tallant, D., Voigt, J., Gnade, B. (1996). Mechanisms behind green photoluminescence in ZnO phosphor powders. *Journal of Applied Physics*. 79 (10), 7983-7990.
- Vázquez-Carrillo, M. G., Ortega-Corona, A., Guerrero-Herrera, M. J., Coutiño-Estrada, B. (2011). Evaluación bioquímica e industrial de razas nativas de maíz de la región serrana de Sonora. En: Amplitud, Mejoramiento, Usos y Riesgos de la Diversidad Genética de Maíz en México. R E Preciado-Ortíz, S Montes-Hernández (eds). Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, Estado de México, México. pp: 97-142.
- Vega-Alvarez, I., Santacruz-Varela, A., Rocandío-Rodríguez, M., Córdova-Téllez, L., López-Sánchez, H., Muñoz-Orozco, A., Hernández-Bautista, A. (2017). Genetic diversity and structure of native maize races from Northwestern Mexico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 52(11):1023-1032.
- Vielle-Calzada J. P., and Padilla, J. (2009). The Mexican Landraces: Description, Classification and Diversity. In: Bennetzen J, L., Hake S, C., Editors. *Handbook of Maize: Its Biology*. New York: Springer. pp. 543–561. 25.
- Viloria, H., y Méndez, N. J. R. (2007). Relación de la calidad fisiológica de semillas de maíz con pH y conductividad eléctrica. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*. Tomo XXXIX. N° 2. 91-100.

- Wagner, G., Korenkov, V., Judy, J. D., Bertsch, P. M. (2016). Nanoparticles composed of Zn and ZnO inhibit *Peronospora tabacina* spore germination in vitro and *P. tabacina* infectivity on tobacco leaves. *Nanomaterials*. 6(3), 50.
- Xu, F., Yu, J., Tesso, T., Dowell, F., & Wang, D. (2013). Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: a mini-review. *Applied Energy*. 104, 801-809.
- Xue, J., Luo, Z., Li, P., Ding, Y., Cui, Y., and Wu, Q. (2014). A residue-free Green synergistic antifungal nanotechnology for pesticide thiram by ZnO nanoparticles. *Scientific Reports*. 4 (5408):1-9.
- Yadav, R. S., Mishra, P., and Pandey, A. C. (2008). Growth mechanism and optical property of ZnO nanoparticles synthesized by sonochemical method. *Ultrasonics Sonochemistry*. 15: 863–868.
- Zak, A. K., Abrishami, M. E., Majid, W. A., Yousefi, R., Hosseini, S. (2011). Effects of annealing temperature on some structural and optical properties of ZnO nanoparticles prepared by a modified sol–gel combustion method. *Ceramics International*. 37 (1), 393-398.