Evaluación de nanomateriales de carbono y ácido giberélico sobre la germinación y desarrollo de agave tobalá (*Agave potatorum*) †

[Evaluation of carbon nanomaterials and gibberellic acid on the germination and development of agave tobala (*Agave potatorum*)]

Nancy Jazmín González-Aranza[1], Amaury Martín Arzate-Fernández[1,*], Hilda Guadalupe García-Núñez[1] and Jesús Ignacio Reyes-Díaz[1,2,*]

*[1]Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México, Carretera Toluca - Ixtlahuaca Kilómetro 15.5, El Cerrillo El Cerrillo Piedras Blancas, 50200 Toluca de Lerdo, México. *Email: amaury1963@yahoo.com.mx; jird.rd@gmail.com*

[2]Unidad Académica de Capulhuac, Universidad Tecnológica del Valle de Toluca, Paraje Lomas de San Juan s/n, de, México. C. P. 52044 Capulhuac de Mirafuentes, México.

[*] Corresponding autor

SUMMARY

Background: *Agave potatorum*, commonly called tobalá or papalomé, is used for mezcal production in different states of the Mexican Republic, with Oaxaca being the main producer. This species depends exclusively on sexual reproduction for its propagation, since it does not produce vegetative propagules, so its conservation and perpetuation depend entirely on seeds, which have reported a low viability rate, placing this species in a state of vulnerability. **Objective:** To evaluate the effect of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) and gibberellic acid (AG_3) on germination, initial development and greenhouse adaptability of *A. potatorum*. **Methodology:** Seven concentrations of MWCNT (0, 25, 50, 75, 100, 125 & 150 mg L^{-1}) and two of AG_3 (250 & 500 ppm) were chosen at two imbibition times (24 and 48 h), within a two-phase experimental design. Data were analyzed by ANOVA and Tukey's test ($p \leq 0.05$). **Results:** The highest germination percentage was 32% with 125 mg L^{-1} at 48 h of imbibition, being significantly higher than the control ($p < 0.05$). AG_3 inhibited germination with percentages ≤7%, showing phytotoxic effects. Structural growth of seedlings was 19.6 mm leaf and 5.6 mm root with 25 mg L^{-1} at 48 h of imbibition. Greenhouse survival was 100% with 50 and 100 mg L^{-1} at 48 h of imbibition. Correlation analysis showed a moderate positive relationship ($r = 0.62$, $p < 0.05$) between initial root length and survival. **Implications:** The use of carbon nanomaterials (50-125 mg L^{-1} at 48 h) contributes to increased seed germination, which can be used for field establishment. **Conclusions:** MWCNTs improved the germination of *A. potatorum* seeds, while the use of AG_3 had negative effects on the seeds under the evaluated conditions.

Key words: *Agave potatorum*; multi-wall carbon nanotubes; gibberellic acid; germination; phytotoxicity; conservation.

RESUMEN

Antecedentes: El *Agave potatorum*, llamado comúnmente tobalá o papalomé, es utilizado para la producción de mezcal en diferentes estados de la República Mexicana, siendo Oaxaca el principal productor. Esta especie depende exclusivamente de la reproducción sexual para su propagación, ya que no produce propágulos vegetativos, por lo que su conservación y perpetuación depende enteramente de las semillas, las cuales han reportado una baja tasa de viabilidad, lo que pone a esta especie en un estado de vulnerabilidad. **Objetivo:** Evaluar el efecto de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y ácido giberélico (AG_3) sobre la germinación, desarrollo inicial y la adaptación en invernadero de *A. potatorum*. **Metodología:** Se evaluaron siete concentraciones de MWCNT (0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg L^{-1}) y dos de AG_3 (250 y 500 ppm) a dos tiempos de imbibición (24 y 48 h), dentro de un diseño experimental bifásico. Los datos se analizaron mediante ANOVA y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). **Resultados:** Se mostró que el mayor porcentaje de germinación fue del 32% con 125 mg L^{-1} a 48 h de imbibición, siendo significativamente superior al control ($p < 0.05$). El AG_3 inhibió la germinación con porcentajes ≤7%, presentando efectos fitotóxicos. Se

† *Submitted March 20, 2026 – Accepted August 27, 2026.* http://doi.org/10.56369/tsaes.6909

Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

ISSN: 1870-0462.

ORCID = N. J. González-Aranza: http://orcid.org/0009-0008-0850-8796**; A. M. Arzate-Fernández:** http://orcid.org/0000-0001-8603-0099**; H. G. García-Núñez:** http://orcid.org/0000-0002-3758-8114**; J. I. Reyes-Díaz:** http://orcid.org/0000-0001-9234-6575

observó un crecimiento estructural de las plántulas de 19.6 mm de hoja y 5.6 mm de raíz con 25 mg L^{-1} a 48 h de imbibición. La supervivencia en invernadero fue del 100% con 50 y 100 mg L^{-1} a 48 h de imbibición. El análisis de correlación mostró una relación positiva moderada ($r = 0.62$, $p < 0.05$) entre la longitud de raíz inicial y la supervivencia. **Implicaciones:** El uso de nanomateriales de carbono (50-125 mg L^{-1} a 48 h) contribuye a un aumento en la germinación de las semillas, lo que puede ser utilizado para el establecimiento en campo. **Conclusiones:** Los MWCNT mejoraron la germinación de las semillas de *A. potatorum*, mientras que el uso de AG_3 tuvo efectos negativos sobre las semillas en las condiciones evaluadas.

Palabras clave: *Agave potatorum*; nanotubos de carbono de pared múltiple; ácido giberélico; germinación; fitotoxicidad; conservación.

INTRODUCCIÓN

El *Agave potatorum*, llamado comúnmente maguey tobalá o papalomé, es utilizado principalmente para la producción de una bebida alcohólica conocida como "mezcal", la cual es producida fundamentalmente en el estado de Oaxaca (García Mendoza, 2010), seguido por Puebla, Michoacán, Durango, San Luis Potosí, Guerrero, Zacatecas, Tamaulipas y Guanajuato (Consejo Mexicano Regulador de la Calidad de Mezcal, 2024). El COMERCAM señala que la producción nacional de mezcal en el año 2023 fue de 12,239,655 litros, con un valor aproximado de 36,162 millones de pesos (MDP), lo que recalca la importancia económica del *A. potatorum*. Sin embargo, se requieren entre 8 y 12 años para su aprovechamiento (Martínez Ramírez *et al*., 2013). Por la alta demanda de mezcal tobalá y la lenta maduración de las plantas, las poblaciones silvestres han estado bajo intensa presión antropogénica (Ruiz Mondragón *et al*., 2023).

El *A. potatorum* es una especie que depende exclusivamente de la reproducción sexual para su propagación, ya que no produce propágulos vegetativos (Torres *et al*., 2015), por lo que su conservación y perpetuación depende enteramente de las semillas. Esta especie ha registrado porcentajes de germinación del 53% (Villavicencio Gutiérrez *et al*., 2024) y 51.7% (Curiel López, 2022). De acuerdo con Gutiérrez Hernández *et al*., (2020), las semillas de *A. potatorum* son oleoproteaginosas y recalcitrantes. Las semillas oleoproteaginosas presentan un alto contenido de grasas y proteínas (Espinoza de Arenas, Tarazona Delgado y Silvera Pablo, 2022), y las semillas recalcitrantes no toleran largos periodos de almacenamiento (William, 1991).

Para estimular la germinación en semillas de diferentes especies como tomate, maíz y trigo, se han realizado estudios usando nanotubos de carbono. Los nanotubos de carbono son alótropos del carbono, con una estructura como una lámina de grafeno enrollada sobre sí misma. Se clasifican de acuerdo con el total de capas que lo forman, en nanotubos de carbono de pared sencilla (SWCNT) y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) (Andrade Guel, 2012).
Los MWCNT promueven la germinación mediante dos mecanismos principales: a) Físico: al interactuar con la testa de la semilla, los nanotubos generan nanoperforaciones que aumentan la permeabilidad y facilitan la entrada de agua y oxígeno (Khodakovskaya *et al*., 2009; Ratnikova *et al*., 2015); y b) Fisiológico: una vez dentro, activan la expresión de genes relacionados con acuaporinas (proteínas de membrana que regulan el transporte de agua) y con sistemas de defensa antioxidante, lo que reactiva el metabolismo del embrión (Yan *et al*., 2013).

En maíz (Tiwari *et al*., 2014), soja, cebada e híbridos de maíz (Lahiani *et al*., 2013) se ha reportado un aumento en la germinación con tratamientos de MWCNT, influyendo positivamente en la elongación y ramificación de raíces en *Brassica oleracea*, *Daucus carota*, *Cucumis sativus*, *Allium* sp. (Cañas *et al*., 2008) y *Cicer arietinum* (Tripathi, Sonkar y Sarkar, 2011).

Por su parte, el ácido giberélico (AG_3) es una fitohormona que forma parte del grupo de las giberelinas (Taiz, 2002), teniendo como principal función la promoción de la germinación. El AG_3 induce la síntesis de α y β-amilasas mediante la descomposición de las reservas de almidón, estimulando la síntesis de enzimas que proporcionan energía al embrión (Gupta y Chakrabarty, 2013). En lechuga (*Lactuca sativa* L.), el AG_3 aumentó la germinación entre 0.5 y 15.8% (Velásquez Baldizón, 2009). No obstante, Amador Alférez *et al*., (2013) señalaron que el AG_3 en dos especies de Cactaceae (*Ferocactus histrix* y *F. latispinus*) inhibió la germinación. De igual forma, Deaquiz Oyola y Burgos Avila, (2013), encontraron que el AG_3 en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inhibió la germinación. También se han registrado efectos tóxicos en concentraciones elevadas, como los reportados por Gil y Miranda, (2008) en semillas de papaya (*Carica papaya* L.).

A pesar de estos reportes contradictorios, se decidió incluir AG_3 en el experimento porque: 1) No existen estudios previos sobre su interacción con MWCNT en especies del género *Agave*, 2) Investigaciones en la misma especie (Curiel López, 2022; Villavicencio Gutiérrez *et al*., 2024) reportaron efectos positivos con 500 ppm, y 3) Era necesario verificar si la combinación con MWCNT potenciaba o inhibía el efecto hormonal en semillas recalcitrantes.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y ácido giberélico (AG_3) sobre la germinación, desarrollo inicial y la adaptación en invernadero de *A. potatorum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron semillas de *A. potatorum* limpias y visiblemente libres de plagas y enfermedades, almacenadas en contenedores herméticos con sílica gel y en condiciones de refrigeración a 4-6°C desde el año 2022 al año 2025, en el que se realizó la experimento, en el Laboratorio de Biología Molecular Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicado en el Campus "El Cerrillo Piedras Blancas".

Morfometría de las semillas

El análisis morfométrico consistió en la selección de 100 semillas de *A. potatorum*. Con ayuda de un vernier digital se midieron la altura (mm), el ancho (mm) y el grosor (mm) de cada una. Para el volumen (mm^3) se multiplicaron las variables anteriores entre sí, como lo mencionan Gutiérrez Hernández *et al*., (2020). Posteriormente se calculó la relación Altura-Ancho dividiendo la altura de las semillas sobre el ancho de estas. Para obtener el peso (mg), las semillas se pesaron en una balanza analítica Sartorius Entris.

Prueba de viabilidad

La viabilidad se midió mediante una prueba de cloruro de tetrazolio al 1%. Se utilizaron 100 semillas con cuatro repeticiones, como lo establecen las normas ISTA. Con un punzón se hizo una perforación en la testa de la semilla (sin dañar el embrión) para facilitar el ingreso de la solución. Después, se colocaron en frascos de vidrio y se agregó la cantidad necesaria de cloruro de tetrazolio para cubrir las semillas. Posteriormente se cubrieron con papel aluminio para evitar la degradación por luz. Los frascos se dejaron por 72 h a una temperatura de 25°C. Transcurridas las 72 h, las semillas fueron retiradas de la solución y se extrajeron los embriones con ayuda de un bisturí y un punzón, colocándolos en una placa de Petri para su posterior análisis. Se tomaron como viables todos aquellos embriones que presentaron una coloración roja intensa y homogénea, mientras que los embriones no viables a todos aquellos que contaran con coloración parcial o carecieran del mismo. (ISTA, 2020).

Desinfección de semillas

Las semillas de *A. potatorum* se desinfectaron mediante el protocolo mencionado por Álvarez-Aragón *et al*., (2020). Se utilizaron 800 semillas para la primera fase y 960 semillas para la segunda fase.

Tratamientos

Primera fase: Solución de nanotubos de carbono de pared múltiple

Para la evaluación del efecto de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) en la germinación, se evaluaron siete concentraciones: 0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg L^{-1}. Para ello se pesaron 1.25, 2.5, 3.75, 5.0, 6.25 y 7.5 mg de MWCNT en una balanza analítica Sartorius Entris, se colocaron en tubos tipo Falcon y se aforaron a 50 mL con agua destilada. Posteriormente se llevaron a un sonicador ultrasónico SONICS VCX-130PB a 180 kHz durante 15 minutos para evitar la precipitación de la solución.

En tubos Eppendorf de 1.5 mL se colocaron las semillas previamente desinfectadas, se agregó 1 mL de solución de MWCNT (cada tratamiento con cinco repeticiones) y se etiquetaron. Después se colocaron en frascos de vidrio, se taparon con papel aluminio y se llevaron a un agitador orbital OS-100 a una velocidad de 200 revoluciones por minuto (RPM) por 24 h y 48 h.

Para evaluar si el proceso de agitación causaba daño físico a las semillas, se realizó una inspección visual al microscopio estereoscópico (20X) antes y después de la imbibición, buscando signos de abrasión, ruptura de testa o deterioro mecánico. No se observaron daños atribuibles a la fricción en ninguno de los tratamientos, probablemente debido a que las semillas de *A. potatorum* tienen una testa gruesa y resistente.

Segunda fase: Solución de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y ácido giberélico (AG_3)

Las concentraciones de AG_3 (250 y 500 ppm) se seleccionaron con base en estudios previos en la misma especie: Curiel López, (2022) reportó germinación del 51.7% usando 500 ppm, mientras que Villavicencio-Gutiérrez *et al*., (2024) obtuvieron 53% con la misma concentración. La dosis de 250 ppm se incluyó para evaluar un posible efecto de dosis-respuesta y determinar si concentraciones más bajas reducían la fitotoxicidad observada en otros estudios.

Para la solución de MWCNT con AG_3, se pesaron 250 y 500 ppm de AG_3 en una balanza analítica Sartorius Entris. En un matraz Erlenmeyer se colocaron 5 mL de agua de osmosis, del cual se extrajo 1 mL colocándolo en un vaso de precipitado para posteriormente agregar

el AG_3, llevándose a un termoagitador CIMAREC SP131325 por 30 segundos aproximadamente. Posteriormente se vertió al matraz Erlenmeyer, aforando a 10 mL. Se repitió el procedimiento para cada concentración a evaluar para obtener 250 ppm y 500 ppm de AG_3 a una proporción p/v.

Las concentraciones de MWCNT utilizadas en la segunda fase fueron las mismas que en la primera fase (0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg L^{-1}), con el fin de evaluar la interacción con AG_3 en todo el rango previamente estudiado.

Al igual que con las soluciones de MWCNT, en tubos Eppendorf se colocaron las semillas de *A. potatorum* previamente desinfectadas, se agregó 0.5 mL de MWCNT (0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg L^{-1}) y 0.5 mL de AG_3, para obtener una solución de 1 mL. Cada tratamiento contó con tres repeticiones. Se etiquetaron cada uno de los tubos Eppendorf, se colocaron en frascos de vidrio, se cubrieron con papel aluminio y se llevaron a un agitador orbital a una velocidad de 200 RPM por 24 h y 48 h.

Germinación en Placas de Petri

Después de someter las semillas a los tratamientos, se enjuagaron con agua destilada para eliminar residuos de los nanomateriales y se colocaron en Placas Petri con papel filtro Whatman hidratado con agua destilada. Se etiquetó cada Placa Petri acorde al tratamiento dado. Las semillas se dejaron en condiciones de 25ºC, bajo un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, además de hidratar las mismas con 1 mL de agua destilada cada tercer día.

Diseño experimental

El estudio consistió en un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial, y estuvo compuesto por dos fases:

Primera fase: Se evaluaron siete concentraciones de MWCNT (0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg L^{-1}) (factor 1) con dos tiempos de imbibición (24 y 48 h) (factor 2). Se incluyeron dos testigos: a) Control positivo (Control +; agua destilada), el agua destilada se considera un Control + porque representa la condición natural de imbibición sin agentes externos, permitiendo establecer la línea base de germinación de la especie (Valdivia-Medina, Pedro-Valdés y Laurel-Gómez, 2010). y b) Control negativo (Control -; peróxido de hidrógeno al 3%), el H_2O_2 se utilizó como Control - porque, aunque en concentraciones bajas puede romper latencia, a concentraciones altas (3%) y tiempos prolongados (24-48 h) genera estrés oxidativo que inhibe la germinación, permitiendo evaluar el efecto de compuestos potencialmente tóxicos (Dolatabadian y Modarres Savany, 2008; Escobar Zuñiga, 2018). Se evaluaron un total de 16 tratamientos con cinco repeticiones para cada uno. Cada repetición contó con 10 semillas ($16 \times 5 \times 10 = 800$ semillas).

Segunda fase: Estuvo compuesta por las mismas concentraciones de MWCNT (factor 1) con los mismos testigos, agregando dos concentraciones de AG_3 (250 y 500 ppm) (factor 2) y dos tiempos de imbibición (24 y 48 h) (factor 3). Se evaluaron 32 tratamientos con tres repeticiones cada uno. Cada repetición contó con 10 semillas ($32 \times 3 \times 10 = 960$ semillas).

Variables evaluadas

Porcentaje de germinación: El conteo comenzó a los 8 días después de la siembra (dds) tomando en cuenta la aparición de la cofia de la raíz y la plúmula para determinar la germinación. Se hicieron cuatro conteos adicionales a los 8, 11, 15 y 21 dds. Para calcular el porcentaje se dividió el total de semillas germinadas (X) sobre el número total de semillas, multiplicado por 100. Ecuación: $(X/50) \times 100$ para la primera fase y $(X/30) \times 100$ para la segunda fase.

Plántulas normales y anormales: Se tomaron como plántulas normales (PN) todas aquellas que contaran con ambas estructuras de raíz y hoja, además de no presentar alguna anormalidad visible. Por otro lado, las plántulas anormales (PA) fueron aquellas que carecían de alguna de las estructuras principales, incluyendo un crecimiento discordante de las mismas, es decir un crecimiento irregular en alguna de sus estructuras. El conteo se realizó a los 28 dds, siendo el periodo óptimo para el desarrollo vegetativo completo de las plántulas.

Toxicidad de las semillas: Esta variable se midió para todos los tratamientos de ambas fases experimentales (incluyendo testigos) utilizando los índices establecidos por Bagur González *et al*., (2011) y Rodríguez-Romero *et al*., (2014). Se calcularon: Germinación Relativa de Semillas (GRS), Crecimiento Relativo de la Radícula (CRR), Índice de Germinación (IG), Índice del porcentaje de Germinación Residual Normalizado (IGN) y Elongación Radical Residual Normalizado (IER). La clasificación del grado de toxicidad se realizó según los rangos: toxicidad muy alta (-0.75 a -1.0), muy tóxico (-0.5 a -0.75), toxicidad moderada (-0.25 a -0.5) y baja toxicidad (0 a -0.25).

Longitud de raíz: Se midieron las raíces con ayuda de un vernier digital (mm), tomando como punto inicial la intercepción (cuello) de la raíz y el hipocótilo hasta el extremo de la raíz principal. Se midió a los 28 dds. El cálculo se determinó sumando la longitud de las raíces de cada plántula por tratamiento y posteriormente sacando el promedio.

Longitud de hoja: Se midieron con un vernier digital (mm) desde la intercepción (cuello) de la raíz con el hipocótilo hasta el extremo de la hoja. Se midió a los 28 dds. El cálculo se hizo sacando el promedio de la suma total de las plántulas.

Supervivencia: A los 32 días después del trasplante (ddt), se hizo un conteo a todas las plántulas de todos los tratamientos. El porcentaje se calculó dividiendo el número de plántulas supervivientes sobre el número total de plántulas ingresadas a invernadero.

Adaptabilidad en invernadero: Para la adaptabilidad se tomaron la longitud de raíz (mm) y longitud de hoja (mm), además de la aparición de una segunda e incluso una tercera hoja, las cuales se midieron con un vernier digital a los 32 ddt. La temperatura máxima fue de 35°C, mínima de 12.7°C, con humedad relativa de 62%. El cálculo se hizo sacando el promedio de la suma total de las plántulas, realizando una comparación antes y después de llevarse a invernadero.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos se analizaron mediante un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial. Para la primera fase, los factores fueron: concentración de MWCNT (7 niveles) y tiempo de imbibición (2 niveles). Para la segunda fase, se incluyó un tercer factor: concentración de AG_3 (2 niveles), contando con dos testigos para cada fase (Control + y Control -).

Los datos de porcentaje de germinación se transformaron con arco seno ($\sqrt{x}/100$) para cumplir con los supuestos de normalidad. Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos y tres vías, según la fase, y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Para las variables de longitud de raíz y hoja, así como para supervivencia, se realizaron análisis de correlación de Pearson para evaluar la relación entre el crecimiento inicial y la adaptabilidad en invernadero. Todos los análisis se realizaron con el software estadístico SAS (Statistical Analysis System, versión 9.4).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfométrica y viabilidad de las semillas

El análisis morfométrico de las semillas de *A. potatorum* (Tabla 1) muestra una longitud promedio de 6.1 mm, un ancho de 4.4 mm, una relación longitud-ancho de 1.40, un peso de 6.8 mg y un volumen de 11.5 mm^3. Estos valores son similares a los reportados por Lechuga-Campuzano *et al*., (2025), quienes encontraron una longitud promedio de 5.08 mm, ancho de 3.59 mm, relación longitud-ancho de 1.42, peso de 6.56 mg y volumen de 14.37 mm^3 para la misma especie. La concordancia entre ambos estudios sugiere que las características morfométricas evaluadas presentan una relativa estabilidad en *A. potatorum*, lo que permite proponer estos valores como parámetros de referencia morfológica para futuros estudios de la especie, particularmente en investigaciones enfocadas en la calidad de semilla y su respuesta a tratamientos pregerminativos.

El peso de las semillas (6.8 mg promedio) es un indicador importante de la calidad fisiológica, ya que, como señalan Pérez Mendoza *et al.*, (2006); Curiel López, (2022), semillas de mayor tamaño y peso tienden a acumular una mayor cantidad de reservas, lo que se traduce en un mayor suministro de nutrientes durante la fase heterótrofa del crecimiento. Este fenómeno es crucial, ya que una mayor disponibilidad de recursos favorece una reactivación más vigorosa del crecimiento embrionario y un desarrollo inicial más robusto de las plántulas (Villavicencio Gutiérrez *et al.*, 2024).

La prueba de viabilidad con tetrazolio reveló un 55.7% de semillas viables y un 44.3 % de semillas no viables. Este porcentaje es consistente con el 57.9% reportado por Lechuga-Campuzano *et al.*, (2025) para la misma especie, pero inferior al 71% encontrado por Curiel López, (2022) en un lote con menor tiempo de almacenamiento (un año). Esta disminución en la viabilidad con el tiempo de almacenamiento (3 años) confirma la naturaleza recalcitrante de las semillas de *A. potatorum*, tal como lo señalaron Gutiérrez Hernández *et al.,* (2020). Las semillas recalcitrantes, a diferencia de las ortodoxas, no toleran la desecación ni el almacenamiento prolongado, perdiendo viabilidad gradualmente (William, 1991). Este hallazgo es fundamental para interpretar los resultados de germinación que se presentan a continuación, ya que el potencial máximo de germinación del lote estaba limitado al 55.7% desde el inicio del experimento.

Primera fase: Efecto de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) en la germinación

La cinética de germinación de las semillas de *A. potatorum* tratadas con MWCN mostró un inicio tardío, con las primeras radículas emergiendo a los 8 días después de la siembra (dds) y un pico de germinación concentrado a los 21 (dds) (Tabla 2). Este patrón de germinación lenta y asincrónica es consistente con lo reportado para diversas especies del género *Agave*, las cuales frecuentemente presentan mecanismos de latencia física o fisiológica que regulan la germinación en el tiempo como una estrategia adaptativa para la supervivencia en ambientes áridos (Villavicencio Gutiérrez *et al.*, 2024).

Tabla 1. Morfometría de las semillas de *A. potatorum* respecto a su longitud (mm), ancho (mm), relación longitud-ancho (mm), peso (mg) y volumen (mm³).

Variable	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Relación Longitud-Ancho	Peso (mg)	Volumen (mm³)
Promedio	6.1	4.4	1.4	6.8	11.5
Máximo	7.5	6.1	1.2	8.0	24.0
Mínimo	4.7	2.5	1.9	6.0	2.8

Tabla 2. Porcentaje de germinación (%) a los 21 días después de la siembra (dds) en semillas de *A. potatorum* tratadas con diferentes concentraciones de MWCNT y dos tiempos de imbibición.

Tratamiento	24 h de imbibición (%)	48 h de imbibición (%)
Agua destilada (Control +)	26 a	12 d
H_2O_2 (Control -)	20 b	22 b
25 mg L^{-1}	16 c	16 c
50 mg L^{-1}	26 a	12 d
75 mg L^{-1}	18 bc	18 bc
100 mg L^{-1}	20 b	16 c
125 mg L^{-1}	26 a	32 a
150 mg L^{-1}	26 a	26 ab

Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

El análisis de varianza reveló diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el porcentaje de germinación final, tanto para la concentración de MWCNT como para el tiempo de imbibición, así como para la interacción entre ambos factores. Este hallazgo subraya que la respuesta germinativa depende críticamente de un balance óptimo entre la dosis de nanopartículas y la duración de la exposición.

Con 24 h de imbibición y concentraciones con 50, 125 y 150 mg L^{-1} de MWCNT se alcanzó un 26% de germinación, mostrando un comportamiento estadísticamente similar al testigo positivo (agua destilada) y superando al control negativo con H_2O_2 (Tabla 2). Este resultado sugiere que, en exposiciones breves, los MWCNT no confieren una ventaja significativa sobre la imbibición convencional, posiblemente porque el tiempo es insuficiente para que los nanotubos interactúen plenamente con las barreras estructurales de la testa.

En contraste, a las 48 h de imbibición se observó un efecto notablemente diferenciado. El tratamiento con 125 mg L^{-1} de MWCNT indujo un porcentaje de germinación del 32%, superando significativamente ($p < 0.05$) al testigo positivo (12%) y al control con H_2O_2 (22%), además de mostrar un incremento relativo del 45% respecto al control con agua. Este resultado evidencia que los MWCNT pueden potenciar la germinación, pero requieren un tiempo mínimo de exposición para ejercer su efecto. Estos resultados coinciden con lo reportado por Khodakovskaya *et al.,* (2009); Ratnikova *et al.,* (2015), quienes demostraron que los MWCNT penetran la testa seminal creando nanoperforaciones que facilitan la entrada de agua y oxígeno. El hecho de que el efecto positivo se observe únicamente a 48 h de imbibición sugiere que los nanotubos de carbono interactúan con los canales de acuaporinas en la membrana celular, modulando el transporte de agua y acelerando la reactivación metabólica del embrión, tal como lo proponen Yan *et al.*, (2013). Gilbertson *et al.,* (2020) también señalaron que los MWCNT actúan sobre los canales de acuaporinas, promoviendo una mejor absorción de agua, lo que explicaría la mayor germinación en los tratamientos con exposición prolongada.

El comportamiento observado es consistente con reportes previos en otras especies cultivadas. Tiwari *et al.,* (2014) encontraron que los MWCNT aumentaron la germinación en maíz entre 11.42 y 24.76%. Martínez González, (2021) observó un incremento del 8% en pepino (*Cucumis sativus*) con MWCNT a 24 h de imbibición, alcanzando el 90% de germinación. Lahiani *et al.*, (2013) también reportaron efectos positivos en soja, cebada e híbridos de maíz, atribuyéndolos a la activación de genes relacionados con el crecimiento y la división celular.

Sin embargo, es importante señalar que el efecto de los MWCNT no siempre es positivo. Juárez-Cisneros *et al.,* (2020) encontraron que en *Eysenhardtia polystachya* los MWCNT disminuyeron la germinación hasta en un 30% comparado con el control. Ese resultado comparado con los obtenidos en el presente trabajo, permite inferir que la variabilidad de germinación es especie-dependiente al efecto de los

nanotubos y está influenciado por la composición química de la testa, la presencia de compuestos inhibitorios y la fisiología particular de la semilla.

Un aspecto crucial para considerar en nuestro estudio es que ninguno de los tratamientos superó el 50% de germinación. Este límite era previsible, dado que la viabilidad inicial del lote de semillas, determinada mediante la prueba de tetrazolio, fue del 55.7%. Este hallazgo es de gran relevancia práctica, ya que confirma que, si bien los MWCNT pueden actuar como agentes promotores al mejorar la permeabilidad de la testa y la absorción de agua, su efecto está acotado por la calidad fisiológica intrínseca de la semilla. En otras palabras, los nanotubos no pueden "revitalizar" embriones no viables, sino que optimizan las condiciones para que las semillas viables expresen su máximo potencial germinativo.

Finalmente, es necesario señalar que no se presenta un análisis detallado de la variable "plántulas normales y anormales". Debido al porcentaje de germinación general moderado (máximo 32%), el tamaño de muestra obtenido para esta categoría fue insuficiente para realizar un análisis estadístico robusto que cumpliera con los criterios de validez recomendados por la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA, 2020). Esta limitación metodológica deberá ser considerada en futuros estudios, donde se sugiere aumentar el número de repeticiones o la cantidad de semillas por tratamiento para poder evaluar el efecto de los MWCNT no solo en la germinación, sino también en la calidad y vigor de las plántulas resultantes.

Toxicidad de los MWCNT

El análisis de los índices de toxicidad reveló una respuesta claramente diferencial de las semillas de *A. potatorum* a la exposición con MWCNT, evidenciando un desacoplamiento entre los procesos de germinación y el crecimiento radicular posterior (Tabla 3). Dado que los índices de germinación normalizado (IGN) y de elongación radical (IER) son variables derivadas y normalizadas respecto al control, su interpretación se aborda desde una perspectiva descriptiva y comparativa, permitiendo identificar tendencias y patrones de respuesta sin la aplicación de pruebas estadísticas inferenciales directas.

A las 24 h de imbibición, el IGN mostró predominantemente niveles de toxicidad bajos a moderados en la mayoría de los tratamientos con MWCNT. Notablemente, las concentraciones de 50, 125 y 150 mg L^{-1} presentaron un IGN de 0.00, equivalente al control positivo, indicando que la germinación no se vio afectada negativamente en estas dosis. Sin embargo, esta aparente inocuidad sobre la germinación contrasta drásticamente con los valores del IER. En todos los tratamientos con MWCNT a 24 h, el IER reveló efectos tóxicos significativos sobre el crecimiento de la radícula (muerte celular), clasificándose como alta o muy alta toxicidad para concentraciones ≥50 mg L^{-1}. El tratamiento con 75 mg L^{-1} resultó particularmente inhibitorio, con un IER de -0.76 (toxicidad muy alta) y un crecimiento relativo radical (CRR) de apenas 24% respecto al control.

Tabla 3. Grado de toxicidad en semillas de *A. potatorum* con el uso de MWCNT (0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg L^{-1}) en 24 y 48 h de imbibición.

Tiempo (h)	Tratamiento	GRS (%)	CRR (%)	IGN	Clasificación IGN	IER	Clasificación IER
24	Control +	100	100	0.00	Sin toxicidad	0.00	Sin toxicidad
	Control -	77	56	-0.23	Baja	-0.44	Moderada
	25 mg L^{-1}	62	51	-0.38	Baja	-0.49	Moderada
	50 mg L^{-1}	100	46	0.00	Sin toxicidad	-0.54	Alta
	75 mg L^{-1}	69	24	-0.31	Moderada	-0.76	Muy alta
	100 mg L^{-1}	77	26	-0.23	Baja	-0.74	Muy alta
	125 mg L^{-1}	100	38	0.00	Sin toxicidad	-0.62	Alta
	150 mg L^{-1}	100	37	0.00	Sin toxicidad	-0.63	Alta
48	Control +	100	100	0.00	Sin toxicidad	0.00	Sin toxicidad
	Control -	157	40	0.83	Estimulación	-0.60	Alta
	25 mg L^{-1}	114	77	0.33	Sin toxicidad	-0.23	Baja
	50 mg L^{-1}	86	83	0.00	Sin toxicidad	-0.17	Baja
	75 mg L^{-1}	129	90	0.50	Estimulación	-0.10	Baja
	100 mg L^{-1}	100	73	0.33	Sin toxicidad	-0.27	Moderada
	125 mg L^{-1}	229	63	1.67	Alta estimulación	-0.37	Moderada
	150 mg L^{-1}	186	49	1.17	Estimulación	-0.51	Alta

GRS = germinación relativa; CRR = crecimiento relativo radical; IGN = índice de germinación normalizado; IER = índice de elongación radical. La clasificación de toxicidad se basa en la magnitud y signo del índice respecto al control.

Este desacoplamiento entre los procesos germinativos (emergencia de la radícula) y el crecimiento posterior de la misma es un hallazgo relevante. Sugiere que, si bien los MWCNT no impiden la reactivación metabólica inicial que culmina en la protrusión de la radícula, sí interfieren con los mecanismos celulares responsables de la elongación y el desarrollo radicular temprano. La división celular rápida y la expansión celular en el meristemo apical de la raíz parecen ser particularmente sensibles a la presencia de estos nanomateriales. Este patrón de toxicidad diferencial ha sido documentado previamente por Hatami, (2017), quien reportó que los MWCNT causaron efectos tóxicos en *Cucurbita pepo* L., disminuyendo el crecimiento de raíces, mientras que Ikhtiari *et al.*, (2013) observaron toxicidad en raíces de lechuga (*Lactuca sativa*) expuestas a MWCNT, limitando su elongación. Asimismo, Cañas *et al.,* (2008) encontraron que los efectos en la elongación radicular de *Brassica oleracea*, *Daucus carota*, *Cucumis sativus* y *Allium* sp. fueron más pronunciados a las 24 h que a las 48 h, lo que coincide con la mayor inhibición observada a las 24 h en nuestro estudio.

El panorama cambia notablemente al prolongar el tiempo de imbibición a 48 h. El IGN mostró una tendencia general hacia la estimulación, destacando especialmente el tratamiento con 125 mg L^{-1}, que alcanzó un IGN de 1.67, clasificado como "alta estimulación". Este valor excepcional se corresponde con un GRS del 229%, lo que indica que la germinación relativa más que se duplicó respecto al control. Este hallazgo refuerza la hipótesis de que, con un tiempo de exposición suficiente, los MWCNT pueden actuar como potentes elicitores de la germinación, probablemente a través de la mejora en la permeabilidad de la testa y la activación de vías de señalización hídrica (Khodakovskaya *et al*., 2009; Yan *et al*., 2013).

Sin embargo, a pesar de esta notable estimulación de la germinación, el IER continuó evidenciando efectos negativos sobre la elongación radical, aunque con una magnitud ligeramente atenuada en comparación con las 24 h. Las concentraciones bajas e intermedias (25–75 mg L^{-1}) presentaron toxicidad baja (IER entre -0.10 y -0.23), mientras que las concentraciones superiores (≥100 mg L^{-1}) mantuvieron niveles de toxicidad moderada a alta. El tratamiento con 125 mg L^{-1}, a pesar de su excepcional IGN, presentó un IER de -0.37 (toxicidad moderada) y un CRR del 63%, confirmando que el efecto promotor sobre la germinación no se extiende al desarrollo posterior de la plúmula y la raíz.

Este patrón sugiere que los mecanismos de acción de los MWCNT son temporal y funcionalmente distintos. Mientras que a las 48 h se maximiza su capacidad para promover la germinación (posiblemente por una mayor interacción con la testa y las acuaporinas), el sistema radical en desarrollo sigue siendo vulnerable a los efectos tóxicos, que podrían estar mediados por la inducción de estrés oxidativo, la adsorción de nutrientes esenciales en la superficie de los nanotubos, o el daño físico a las células meristemáticas en división.

El tratamiento con H_2O_2 (control negativo) mostró un comportamiento contrastante que merece un análisis aparte. A las 24 h, exhibió inhibición tanto en germinación (IGN = -0.23) como en crecimiento radical (IER = -0.44), actuando como un agente estresante. Sin embargo, a las 48 h, se observó un fenómeno inverso: una estimulación en la germinación relativa (GRS = 157%, IGN = 0.83) acompañada de una marcada reducción en la elongación radical (IER = -0.60, toxicidad alta). Esta respuesta dual del peróxido de hidrógeno es consistente con la literatura, que lo describe como una molécula señalizadora con efectos bifásicos: a bajas concentraciones o tiempos de exposición cortos puede actuar como elicitior de respuestas de defensa y promover la germinación (Dolatabadian y Modarres Savany, 2008), mientras que a altas concentraciones o exposiciones prolongadas induce daño oxidativo (Morales Pizarro *et al.,* 2025). En nuestro caso, el tiempo de imbibición de 48 h parece haber permitido que el H_2O_2 ejerciera un efecto estimulante sobre la germinación, pero no logró revertir el daño oxidativo sobre el ápice radical en desarrollo.

Crecimiento de plántulas

El análisis del crecimiento de las plántulas de *A. potatorum* reveló diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) en función de la concentración de MWCNT y el tiempo de imbibición (Tabla 4), evidenciando una respuesta diferencial y órgano-específica que refleja la compleja interacción entre el nanomaterial y los procesos fisiológicos del desarrollo temprano.

A 24 h de imbibición, la elongación radical fue significativamente mayor en el testigo positivo (20.7 mm), superando a todos los tratamientos con MWCNT. En contraste, las semillas expuestas a nanotubos presentaron una reducción generalizada en la longitud de raíz, con valores que oscilaron entre 5.0 mm (75 mg L^{-1}) y 10.5 mm (25 mg L^{-1}), sin diferencias significativas entre la mayoría de las concentraciones. Este patrón indica un efecto inhibitorio temprano de los MWCNT sobre el crecimiento radicular, posiblemente asociado a alteraciones en la división y elongación celular.

A 48 h de imbibición, se observó una disminución general en la longitud de raíz en todos los tratamientos, incluyendo el control (6.8 mm), lo que sugiere que el tiempo prolongado de inhibición ejerce un efecto negativo

Tabla 4. Crecimiento de la longitud de la raíz y hoja (mm) de plántulas de *A. potatorum* con diferentes concentraciones de MWCNT a 24 y 48 horas de imbibición a los 28 días después de la siembra (dds).

Tratamiento	24 h de imbibición		48 h de imbibición	
	Longitud de raíz (mm)	Longitud de hoja (mm)	Longitud de raíz (mm)	Longitud de hoja (mm)
Control +	20.7 ± 1.2 a	27.2 ± 1.5 a	6.8 ± 0.6 a	18.7 ± 1.3 a
Control -	11.7 ± 0.9 b	11.9 ± 1.0 c	2.7 ± 0.4 b	6.2 ± 0.7 d
25 mg L^{-1}	10.5 ± 0.8 bc	18.3 ± 1.2 b	5.6 ± 0.5 a	19.6 ± 1.4 a
50 mg L^{-1}	9.5 ± 0.7 cd	11.7 ± 0.9 c	6.4 ± 0.6 a	8.7 ± 0.8 cd
75 mg L^{-1}	5.0 ± 0.5 f	8.6 ± 0.7 d	5.2 ± 0.5 a	6.9 ± 0.6 d
100 mg L^{-1}	5.4 ± 0.6 ef	8.5 ± 0.6 d	4.7 ± 0.4 ab	5.8 ± 0.5 d
125 mg L^{-1}	7.9 ± 0.7 de	15.1 ± 1.1 b	3.7 ± 0.4 b	14.5 ± 1.2 b
150 mg L^{-1}	7.7 ± 0.6 de	13.9 ± 1.0 bc	3.5 ± 0.3 b	12.4 ± 1.0 bc

Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los valores representan la media ± error estándar.

sobre el desarrollo radicular. No obstante, dentro de este contexto, las concentraciones intermedias (25–75 mg L^{-1}) mostraron valores relativamente mayores, sin diferencias estadísticas entre ellas, mientras que las concentraciones más altas (125 y 150 mg L^{-1}) presentaron los menores valores. Estos resultados confirman parcialmente los índices de toxicidad, donde el crecimiento radicular se identificó como el parámetro más sensible a la exposición a MWCNT.

En cuanto al crecimiento foliar, a 24 h de imbibición el testigo positivo alcanzó la mayor longitud de hoja (27.2 mm), seguido por 25 mg L^{-1} (18.3 mm) y 125 mg L^{-1} (15.1 mm), los cuales fueron significativamente superiores al resto de los tratamientos con MWCNT. Las concentraciones más altas (≥75 mg L^{-1}) mostraron una reducción notable en el crecimiento foliar, evidenciando un efecto negativo dependiente de la dosis.

A 48 h de imbibición, el patrón de respuesta fue más heterogéneo. Destaca la concentración de 25 mg L^{-1}, que alcanzó valores comparables al testigo (19.6 *vs* 18.7 mm), lo que sugiere un posible efecto estimulador bajo condiciones de mayor tiempo de exposición. De manera similar, 125 y 150 mg L^{-1} mostraron valores intermedios, mientras que concentraciones de 50–100 mg L^{-1} mantuvieron un efecto inhibitorio.

Un aspecto relevante fue el desacoplamiento entre el crecimiento radicular y foliar en varios tratamientos. A 48 h, concentraciones como 25, 125 y 150 mg L^{-1} promovieron mayor elongación foliar en comparación con la radicular, mientras que en 50–100 mg L^{-1} se observó una tendencia opuesta o proporcionalmente más equilibrada. Este comportamiento sugiere una redistribución diferencial de recursos o sensibilidad tisular frente a los MWCNT.

Estos resultados indican una respuesta tipo hormética, donde bajas concentraciones de MWCNT pueden estimular el crecimiento, mientras que concentraciones elevadas generan efectos inhibitorios. Dubon Morales, (2025) menciona que los MWCNT pueden mejorar el potencial hídrico y favorecer el crecimiento vegetal; sin embargo, nuestros resultados sugieren que este efecto positivo depende críticamente de la dosis y del tiempo de exposición, manifestándose principalmente en el crecimiento foliar bajo condiciones específicas.

Finalmente, el balance entre crecimiento radicular y foliar es un factor clave para el establecimiento de plántulas. Nelson *et al.*, (2022) señalan que el crecimiento proporcional entre raíz y hoja es importante para la supervivencia de las plántulas, ya que permite un equilibrio entre la absorción de agua y la captación de luz. En nuestro estudio, los tratamientos que mostraron crecimiento desproporcionado (raíz mucho más larga que hoja o viceversa) podrían tener desventajas en etapas posteriores, como se discute en la sección de supervivencia.

Supervivencia y adaptabilidad en invernadero

La fase de aclimatación en invernadero representa el verdadero desafío para las plántulas provenientes de tratamientos con nanomateriales, ya que integra todos los procesos previos (germinación, crecimiento inicial) y los somete a las condiciones ambientales. El análisis de la supervivencia mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$), evidenciando un efecto combinado y complejo de la concentración de MWCNT y el tiempo de imbibición (Tabla 5), que no siempre se correspondió con los patrones observados en las fases previas de germinación y crecimiento.

Tabla 5. Supervivencia y desarrollo post-trasplante de plántulas de *A. potatorum* provenientes de semillas tratadas con MWCNT a 24 y 48 horas de imbibición a los 32 días después del trasplante (ddt).

Tratamiento	Supervivencia (%)*		Longitud de raíz (mm)	Longitud de hojas (mm)		
	24 h de imbibición	48 h de imbibición		1ª hoja	2ª hoja	3ª hoja
Control +	45 ± 3 cd	67 ± 4 bc	20.7 ± 1.5 a	46.5 ± 2.8 a	24.5 ± 2.0 a	7.0 ± 0.8 a
Control -	50 ± 4 c	0 ± 0 e	14.1 ± 1.2 b	6.2 ± 0.9 e	2.0 ± 0.3 d	0.0 ± 0.0 b
25 mg L^{-1}	75 ± 5 b	60 ± 4 bc	22.1 ± 1.7 a	19.6 ± 1.5 c	25.3 ± 2.1 a	5.0 ± 0.6 a
50 mg L^{-1}	50 ± 3 c	100 ± 0 a	16.1 ± 1.3 b	27.3 ± 2.0 b	25.3 ± 2.0 a	0.0 ± 0.0 b
75 mg L^{-1}	80 ± 4 a	0 ± 0 e	10.3 ± 0.9 c	6.9 ± 0.8 e	7.1 ± 0.7 c	0.0 ± 0.0 b
100 mg L^{-1}	67 ± 3 b	100 ± 0 a	13.0 ± 1.1 b	34.5 ± 2.5 ab	25.3 ± 2.1 a	6.0 ± 0.7 a
125 mg L^{-1}	60 ± 4 bc	63 ± 3 bc	7.3 ± 0.8 c	23.9 ± 1.8 bc	15.2 ± 1.4 b	0.0 ± 0.0 b
150 mg L^{-1}	67 ± 3 b	57 ± 3 c	6.4 ± 0.7 c	28.6 ± 2.2 b	5.9 ± 0.6 c	0.0 ± 0.0 b

Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los valores representan la media ± error estándar.

A las 24 h de imbibición, la mayoría de los tratamientos con MWCNT presentaron valores de supervivencia iguales o superiores al 50%, destacando significativamente las concentraciones de 75 mg L^{-1} (80%) y 25 mg L^{-1} (75%), que superaron al control positivo (45%) y al control negativo (50%). Este resultado sugiere que, con un tiempo de exposición moderado, concentraciones bajas a intermedias de MWCNT pueden ejercer un efecto positivo en la capacidad de establecimiento, posiblemente al inducir respuestas fisiológicas que preparan a la plántula para enfrentar el estrés del trasplante.

En marcado contraste, a las 48 h de imbibición se observó una respuesta diferencial mucho más pronunciada y, en algunos casos, diametralmente opuesta. Los tratamientos con 50 y 100 mg L^{-1} alcanzaron el 100% de supervivencia, un resultado excepcional que casi duplica o triplica los valores del control positivo (67%) y supera ampliamente a los demás tratamientos. Sin embargo, de manera igualmente notable, el tratamiento con 75 mg L^{-1} y el control negativo (H_2O_2) presentaron mortalidad total (0% de supervivencia) a las 48 h.

Este comportamiento contrastante es un claro ejemplo de respuesta hormética dependiente del tiempo de exposición: concentraciones específicas (50 y 100 mg L^{-1}) que a 24 h mostraban supervivencias moderadas (50% y 67%, respectivamente), se convirtieron en tratamientos óptimos al prolongar la imbibición a 48 h. Por el contrario, la concentración de 75 mg L^{-1}, que a 24 h había mostrado la mayor supervivencia (80%), resultó letal al duplicar el tiempo de exposición. Este patrón sugiere la existencia de ventanas temporales críticas en las que la interacción de los MWCNT con los tejidos seminales y embrionarios puede inclinar la balanza hacia la adaptación o hacia el daño irreversible.

La mortalidad total observada en el tratamiento con 75 mg L^{-1} a 48 h de imbibición resulta particularmente relevante y, en apariencia, paradójica. Este tratamiento había mostrado, en fases previas, un índice de elongación radical (IER) de -0.10 (toxicidad baja, Tabla 3) y un crecimiento radicular a 48 h de 5.2 mm (estadísticamente similar al control positivo, Tabla 4). Es decir, desde la perspectiva del crecimiento temprano, no había indicios claros de que esta combinación dosis-tiempo fuera a resultar letal en la fase de invernadero. Este hallazgo tiene implicaciones metodológicas y fisiológicas profundas. Indica, en primer lugar, que la longitud de raíz por sí sola no es un predictor suficiente de la capacidad de supervivencia a mediano plazo. Es probable que factores fisiológicos adicionales, no capturados por las métricas morfométricas simples, hayan contribuido a la pérdida de viabilidad. Este fenómeno subraya la importancia de realizar evaluaciones integrales que incluyan no solo parámetros de germinación y crecimiento temprano, sino también el seguimiento hasta fases avanzadas del desarrollo, ya que los efectos de los nanomateriales pueden manifestarse de manera diferida o sinérgica con estresores ambientales posteriores.

El análisis de correlación de Pearson evidenció una relación positiva moderada entre la longitud de raíz a los 28 dds y la supervivencia a los 32 ddt ($r = 0.62$, $p < 0.05$). Esta correlación, aunque no es extremadamente alta, confirma que un mayor desarrollo radicular favorece la adaptación en invernadero, probablemente al mejorar la capacidad de exploración del sustrato, la absorción de agua y nutrientes, y el anclaje mecánico de la plántula.

En contraste, no se detectó correlación significativa entre la longitud de hoja y la supervivencia ($r = 0.18$, $p > 0.05$). Este hallazgo es de gran relevancia fisiológica, ya que sugiere que, en las etapas tempranas del

establecimiento de *A. potatorum*, el sistema radicular constituye el principal determinante del éxito, por encima del desarrollo foliar. Una plántula con hojas grandes, pero raíz subdesarrollada puede ser más vulnerable al estrés hídrico post-trasplante, ya que su superficie de transpiración es alta pero su capacidad de absorción es limitada. Este desacoplamiento funcional refuerza la hipótesis planteada en la sección anterior sobre la importancia del balance raíz-hoja para el establecimiento exitoso.

En términos de crecimiento posterior al trasplante, las plántulas supervivientes mantuvieron un desarrollo activo, reflejado en el incremento de la longitud de raíz y hoja, así como en la emisión de segunda y tercera hoja (Tabla 5). Sin embargo, este crecimiento no fue homogéneo entre tratamientos, lo que permite distinguir entre supervivencia "pasiva" (la plántula logra mantenerse viva, pero con crecimiento limitado) y supervivencia "activa" o adaptación integral (la plántula no solo sobrevive, sino que retoma un crecimiento vigoroso).

Las concentraciones de 25 y 100 mg L^{-1} destacaron por promover tanto una alta supervivencia como un desarrollo foliar robusto, incluyendo la formación de nuevas hojas (segunda y tercera). En particular, el tratamiento con 100 mg L^{-1} a 48 h (100% de supervivencia) produjo plántulas con longitud de primera hoja de 34.5 mm y emisión de tercera hoja en 6.0 mm, valores comparables o superiores al control positivo en varios parámetros. Esto indica que estos tratamientos no solo permitieron la supervivencia, sino que confirieron a las plántulas una mayor capacidad de adaptación integral, posiblemente al inducir cambios fisiológicos beneficiosos que perduran más allá de la fase de tratamiento.

Por el contrario, concentraciones altas (≥125 mg L^{-1}), aunque mostraron supervivencias moderadas (57-63%), limitaron significativamente el crecimiento posterior, particularmente en la formación de nuevas hojas (ausencia de tercera hoja en todos estos tratamientos). Este patrón sugiere efectos inhibitorios persistentes sobre la actividad meristemática, incluso en plántulas que lograron superar la fase crítica del trasplante. Los meristemos apicales y foliares parecen ser especialmente sensibles a los efectos residuales de altas concentraciones de MWCNT, lo que compromete el potencial de crecimiento a mediano plazo.

Segunda fase: Efecto de la combinación MWCNT + AG_3

La aplicación combinada de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) y ácido giberélico (AG_3) provocó una inhibición severa y altamente significativa de la germinación de *A. potatorum* ($p < 0.001$) en comparación con los resultados de la fase previa, donde los MWCNT se aplicaron sin regulador de crecimiento (Tabla 6). De manera generalizada, la mayoría de los tratamientos presentaron germinación nula (0%), evidenciando un efecto marcadamente fitotóxico bajo las condiciones experimentales evaluadas, con una respuesta que sugiere una interacción antagónica entre ambos factores.

El valor máximo de germinación registrado en toda la segunda fase fue de apenas 7%, observado únicamente en dos tratamientos: 50 mg L^{-1} de MWCNT + 500 ppm AG_3 a 48 h y 150 mg L^{-1} de MWCNT + 500 ppm AG_3 a 48 h. Este porcentaje, extremadamente bajo, contrastó de manera dramática con los resultados de la fase previa, donde se alcanzó hasta un 32% de germinación con MWCNT sin AG_3. Incluso los tratamientos control con AG_3 (sin MWCNT) mostraron porcentajes mínimos (≤3%), lo que constituye un hallazgo crucial: el efecto inhibitorio está fuertemente asociado al regulador de crecimiento y no exclusivamente a su interacción con los MWCNT.

Este comportamiento contrasta notablemente con estudios previos en la misma especie, Curiel López, (2022) y Villavicencio Gutiérrez *et al.*, (2024) reportaron porcentajes de germinación superiores al 50% con 500 ppm de AG_3. La aparente contradicción encuentra una explicación plausible en diferencias metodológicas críticas, particularmente en el tiempo de imbibición. En los estudios citados, las semillas fueron sometidas a tiempos de imbibición cortos (1–2 horas), mientras que en el presente trabajo se evaluaron periodos prolongados (24 y 48 h). Esta exposición extendida probablemente indujo una sobredosificación hormonal ya que al permanecer en contacto con la solución de AG_3 durante 24 o 48 h, el embrión acumuló concentraciones supraóptimas de la hormona, activando respuestas de estrés o senescencia en lugar de promover la germinación. Este fenómeno de inhibición por sobredosis hormonal ha sido previamente documentado en otras especies, donde concentraciones elevadas o tiempos prolongados de exposición a giberelinas pueden revertir su efecto promotor (Gil y Miranda, 2008).

Tabla 6. Porcentajes de germinación, índices de toxicidad y parámetros de crecimiento de semillas de *A. potatorum* tratadas con MWCNT y AG_3 (250 y 500 ppm) a 24 y 48 horas de imbibición.

Tratamiento	AG_3 (ppm)	Imbibición	Germinación (%)		GRS (%)	CRR (%)	IG	IGN	IER
			14 dds	21 dds					
Control +	250	24 h	3 ± 0.5 b	3 ± 0.5 b	8	36	0.0003	-1.00	-1.05
Control -			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
25 mg L^{-1}			3 ± 0.4 b	3 ± 0.4 b	8	15	0.0001	-1.00	-1.05
50 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
75 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
100 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
125 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
150 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
Control +	500		3 ± 0.5 b	3 ± 0.5 b	8	15	0.0001	-1.00	-1.05
Control -			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
25 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
50 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
75 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.05
100 mg L^{-1}			3 ± 0.4 b	3 ± 0.4 b	8	46	0.0004	-1.00	-2.00
125 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	8	0	0.0000	-1.00	-1.11
150 mg L^{-1}			0 ± 0 c	3 ± 0.3 b	8	29	0.0002	-1.00	-1.11
Control +	250	48 h	3 ± 0.5 b	3 ± 0.5 b	8	23	0.0002	-0.72	-0.48
Control -			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
25 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
50 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
75 mg L^{-1}			3 ± 0.4 b	0 ± 0 c	29	93	0.0027	-0.72	-0.06
100 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
125 mg L^{-1}			3 ± 0.4 b	3 ± 0.4 b	14	0	0.0000	-0.72	-1.00
150 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
Control +	500		0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
Control -			0 ± 0 c	3 ± 0.3 b	14	92	0.0013	-0.72	-0.08
25 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
50 mg L^{-1}			7 ± 0.6 a	7 ± 0.6 a	29	39	0.0011	-0.44	-0.61
75 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
100 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
125 mg L^{-1}			0 ± 0 c	0 ± 0 c	0	0	0.0000	-1.00	-1.00
150 mg L^{-1}			7 ± 0.5 a	7 ± 0.5 a	29	129	0.0037	-0.44	0.29

Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). GRS = germinación relativa; CRR = crecimiento relativo radical; IG = índice de germinación; IGN = índice de germinación normalizado; IER = índice de elongación radical.

Un aspecto particularmente relevante es que, aunque el AG_3 fue el factor dominante en la inhibición, los MWCNT probablemente exacerbaron este efecto al incrementar la permeabilidad de la testa seminal. Se ha demostrado que los nanotubos de carbono tienen la capacidad de generar nanoporos en la cubierta de la semilla (Khodakovskaya *et al.,* 2009), facilitando una entrada más rápida y masiva de solutos hacia el embrión. Bajo este escenario, la combinación MWCNT + AG_3 operaría de la siguiente manera: los MWCNT penetran la testa creando vías de entrada adicionales; esta mayor permeabilidad permite que el AG_3 alcance el embrión más rápidamente y en mayores cantidades que en condiciones normales; como resultado, incluso concentraciones moderadas de AG_3 en la solución externa se traducen en concentraciones internas supraóptimas y potencialmente tóxicas para el embrión, intensificando el efecto inhibitorio.

Los dos tratamientos que alcanzaron un 7% de germinación merecen un análisis más detallado. En el caso de 50 mg L^{-1} MWCNT + 500 ppm AG_3 a 48 h, se observó un IGN de -0.44 (toxicidad moderada) y un IER de -0.61 (toxicidad moderada-alta). En el tratamiento de 150 mg L^{-1} MWCNT + 500 ppm AG_3 a 48 h, el IGN fue también de -0.44, pero el IER mostró un valor de 0.29, clasificado como "sin toxicidad" e incluso ligeramente positivo. Este último dato es particularmente interesante, ya que sugiere que, en esta combinación específica, aunque la germinación fue mínima (7%), las plántulas que lograron emerger mostraron una capacidad de elongación radical comparable o incluso superior a lo esperado, indicando

que solo los embriones con una constitución particularmente robusta lograron no solo germinar, sino también desarrollar un sistema radical funcional.

Resultados similares de inhibición por AG_3 bajo condiciones específicas han sido reportados en otras especies, lo que contextualiza nuestros hallazgos dentro de un patrón más amplio de respuesta especie-dependiente a esta hormona. En *Solanum lycopersicum*, Deaquiz Oyola y Burgos Avila, (2013) encontraron que concentraciones elevadas de AG_3 podían inhibir la germinación dependiendo del cultivar y las condiciones de imbibición. En cactáceas como *Ferocactus histrix* y *F. latispinus*, Amador Alférez *et al.,* (2013) documentaron que la respuesta al AG_3 era altamente variable y que, en algunos casos, la hormona no mejoraba la germinación o incluso la reducía.

Debido a los bajos porcentajes de germinación obtenidos en esta segunda fase (≤7%), no fue posible evaluar variables posteriores como longitud de hoja, desarrollo de plántulas normales y anormales, supervivencia en invernadero o capacidad de adaptación ex vitro. El tamaño de muestra resultante fue insuficiente para realizar análisis estadísticos robustos que cumplieran con los criterios de validez recomendados por la ISTA (2020).

Mecanismos de acción e implicaciones para la conservación de *A. potatorum*

Los resultados de esta investigación, en su conjunto, evidencian una respuesta dual en el uso de MWCNT en *A. potatorum*, caracterizada por efectos tanto promotores como inhibitorios dependiendo del contexto experimental. Mientras que en la primera fase los MWCNT a 125 mg L^{-1} y 48 h incrementaron la germinación hasta un 32%, en combinación con AG_3 generaron un efecto antagónico, reduciendo drásticamente la viabilidad.

Este comportamiento coincide con lo reportado por Gilbertson *et al.,* (2020) para nanomateriales en sistemas biológicos, donde su efecto depende de un equilibrio crítico entre concentración, tiempo de exposición y la presencia de otros compuestos bioactivos. En el presente estudio, se confirma la existencia de una ventana óptima de aplicación para MWCNT en *A. potatorum* (50–125 mg L^{-1}, 48 h), fuera de la cual, o en combinación con ciertos reguladores, los efectos pueden volverse perjudiciales.

El efecto inhibitorio del AG_3 bajo estas condiciones subraya la necesidad de ajustar finamente los protocolos de imbibición hormonal, considerando que factores como la duración de exposición y la integridad/modificación de la testa pueden modificar radicalmente la respuesta fisiológica. Lo que en condiciones estándar (imbibición corta) es un promotor eficaz, en condiciones de imbibición prolongada o con testa hiperpermeable puede convertirse en un agente fitotóxico.

Desde una perspectiva aplicada, los resultados tienen implicaciones relevantes para la conservación y propagación de *A. potatorum*. Considerando una viabilidad inicial del 55.7% y una germinación basal del 22-26%, el incremento observado con MWCNT 125 mg L^{-1} a 48 h (32%) representa una mejora sustancial de aproximadamente el 45% en la germinación relativa, potencialmente traducible en una mayor producción de plántulas para programas de restauración ecológica o propagación comercial.

Asimismo, la supervivencia del 100% en invernadero observada en tratamientos con 50 y 100 mg L^{-1} de MWCNT sugiere que estos nanomateriales no solo favorecen la germinación, sino que también promueven la formación de plántulas más vigorosas y mejor adaptadas. En este sentido, la correlación positiva entre longitud radicular y supervivencia ($r = 0.62$) respalda el uso del desarrollo radicular como un indicador temprano de éxito en el establecimiento.

En el contexto de la segunda fase, aunque la germinación fue mínima, los pocos individuos que germinaron (especialmente en 150 mg L^{-1} + 500 ppm AG_3 a 48 h) mostraron un crecimiento radical notable, lo que abre la pregunta sobre si estos tratamientos extremos podrían utilizarse como herramientas de selección temprana de genotipos particularmente tolerantes al estrés, para su uso en programas de mejoramiento genético o conservación *ex situ*.

En síntesis, este estudio demuestra que los MWCNT, aplicados en dosis y tiempos precisos, pueden ser herramientas eficaces para mejorar la propagación de *A. potatorum*, pero también advierte sobre los riesgos de combinaciones subóptimas o de la interacción con reguladores de crecimiento como el AG_3 en condiciones de imbibición prolongada. La interacción entre nanomateriales y fitorreguladores es compleja y no siempre predecible a partir de sus efectos individuales, lo que subraya la importancia de evaluar sistemáticamente estas combinaciones antes de su implementación en protocolos de propagación, y refuerza la necesidad de un enfoque fino y contexto-dependiente en el uso de estas herramientas para la conservación de especies amenazadas o de interés económico.

CONCLUSIONES

Los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) demostraron un efecto significativo en la germinación y desarrollo de *A. potatorum*, el cual estuvo determinado por la concentración aplicada y el tiempo de imbibición. La concentración de 125 mg L^{-1}

de MWCNT con 48 h de imbibición incrementó la germinación hasta un 32%, superando al control (22%) y a los demás tratamientos evaluados.

En contraste, el crecimiento y desarrollo de las plántulas, la concentración de 25-75 mg L^{-1} favorecieron el crecimiento, siendo equilibrado entre raíz y hoja, esto propiciando una mejor supervivencia en condiciones de invernadero. El análisis de correlación de Pearson reveló una asociación positiva moderada ($r = 0.62$, $p < 0.05$) entre la longitud de raíz inicial y la capacidad de adaptación, confirmando que un sistema radicular desarrollado es determinante para el establecimiento exitoso de las plántulas.

Por otra parte, el ácido giberélico (AG_3) en todas las concentraciones y tiempos evaluados (250 y 500 ppm; 24 y 48 h) inhibió severamente la germinación, con porcentajes ≤7%, y mostró efectos fitotóxicos evidentes que imposibilitaron el desarrollo de plántulas normales.

En conjunto, los resultados demuestran que los MWCNT constituyen una herramienta prometedora para programas de conservación y establecimiento de *A. potatorum*, con una ventana óptima de aplicación que debe seleccionarse según el objetivo: 125 mg L^{-1} a 48 horas para maximizar la germinación, o 50-100 mg L^{-1} a 48 h para garantizar la supervivencia y adaptabilidad de las plántulas. En contraste, el uso de AG_3 en las condiciones evaluadas debe evitarse por sus efectos fitotóxicos, recomendándose explorar tiempos de imbibición más cortos en futuros estudios si se desea evaluar esta hormona.

Este trabajo constituye el primer reporte sobre el uso de MWCNT y la interacción de MWCNT y AG_3 en el género *Agave*, sentando las bases para investigaciones futuras orientadas a optimizar protocolos de germinación asistida para la conservación de especies amenazadas.

Founding. This research was supported by the Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) through project CBF-2025-I-463.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Compliance with ethical standards. Not applicable.

Data availability. The data is available with the Dr. Amaury-M. Arzate-Fernández (amaury1963@yahoo.com.mx) and Dr. Reyes-Díaz (jird.rd@gmail.com) at reasonable request.

AI disclosure statement. We declare that no generative artificial intelligence tools were employed in the preparation of this manuscript.

Authorship Contribution Statement (CRediT). N.J. González-Aranza – Data curation, formal analysis, investigation, methodology, validation, writing – original draft, writing – review and editing. **A.M. Arzate-Fernández –** Conceptualization, investigation, resources, supervision, writing – review and editing. **H.G. García-Núñez –** Investigation, methodology advice, writing – review and editing. **J.I. Reyes-Díaz –** Formal analysis, investigation, methodology, project administration, writing – original draft, supervision, writing – review and editing.

REFERENCES

Alvarez-Aragón, C., Arzate-Fernández, A.-M., Martínez-Martínez, S.-Y. and Martínez-Velasco, I., 2020. Regeneración de plantas de *Agave marmorata* Roezl, vía embriogénesis somática. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, [online] 23(2), pp.36. https://doi.org/10.56369/tsaes.3117

Amador Alférez, K.A., Díaz González, J., Loza Cornejo, S. and Bivián Castro, E.Y., 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus (Cactaceae)*. *Polibotánica*, [online] (35), Feb. Available at: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682013000100007

Andrade Guel, M.L.A., 2012. Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, [online] 43(3). Available at: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300002

Bagur-González, M.G., Estepa-Molina, C., Martín-Peinado, F. and Morales-Ruano, S., 2011. Toxicity assessment using Lactuca sativa L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Journal of Soils and Sediments*, 11(2), pp.281–289. https://doi.org/10.1007/s11368-010-0285-4

Cañas, J.E., Long, M., Nations, S., Vadan, R., Dai, L., Luo, M., Ambikapathi, R., Lee, E.H. and Olszyk, D., 2008. Effects of functionalized

and nonfunctionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(9), pp.1922–1931. https://doi.org/10.1897/08-117.1

Consejo Mexicano Regulador de la Calidad de Mezcal, 2024. Informe estadístico 2024. *COMERCAM*, p.25.

Curiel López, A.C., 2022. Calidad física y fisiológica de la semilla y efecto de diferentes longitudes de onda en la germinación de *Agave potatorum* Zucc. *(*papalomé*)*. [online] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Available at: http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/48928/K%2068144%20Curiel%20L%C3%B3pez,%20Carolina%20Antonia.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Deaquiz Oyola, Y.A. and Burgos Avila, Y.E., 2013. Efecto de la aplicación de giberelinas (AG_3) sobre germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) variedad santa cruz. [online]. *Conexión Agropecuaria JDC*, 3(2), pp.29-36

Dolatabadian, A. and Modarres Savany, S.A., 2008. Effect of the Ascorbic Acid, Pyridoxine and Hydrogen Peroxide Treatments on Germination, Catalase Activity, Protein and Malondialdehyde Content of Three Oil Seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 36, pp.61–66. DOI: https://doi.org/10.15835/nbha36270

Dubon Morales, E.I.D., 2025. Producción de sandía inoculada con endomicorrizas nativas y la aplicación de nanotubos de carbono de pared múltiple. [online] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Available at: https://repositorio.uaaan.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/50442/EILIN%20ISABEL%20DUBON%20MORALES_locked.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Escobar Zuñiga, Y., 2018. Efecto del pretratamiento con peróxido de hidrógeno (h2o2) sobre el valor nutricional, niveles de fitoquímicos y capacidad antioxidante en germinados de garbanzo blanco. [online] Universidad Autónoma De Sinaloa. Available at: https://mcta.uas.edu.mx/index.php?seccion=2016-2018

Espinoza de Arenas, M., Tarazona Delgado, R. and Silvera Pablo, C.C., 2022. Leguminosas proteaginosas y oleaginosas. In: R.A Valdez-Nuñez, C.C. Silvera Pablo and E.L. Bedmar Gómez, eds. Las leguminosas y su microbioma en la agricultura sostenible. 1st edn. [online] Lima, Perú: Universidad Nacional de Barranca.

García-Mendoza, A.J., 2010. Revisión taxonómica del complejo *Agave potatorum* Zucc. (*Agavaceae*): nuevos taxa y neotipificación. *Acta Botanica Mexicana*, (91), pp.71–93. https://doi.org/10.21829/abm91.2010.292

Gil C, A.I. and Miranda L, D., 2008. Efecto de la temperatura, inmersión en agua y concentración de fitorreguladores sobre la germinación de semillas de papaya (*Carica papaya* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, [online] 2(1). Available at: https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_horticolas/article/view/1169

Gilbertson, L.M., Pourzahedi, L., Laughton, S., Gao, X., Zimmerman, J.B., Theis, T.L., Westerhoff, P. and Lowry, G.V., 2020. Guiding the design space for nanotechnology to advance sustainable crop production. *Nature Nanotechnology*, 15(9), pp.801–810. https://doi.org/10.1038/s41565-020-0706-5

Gupta, R. and Chakrabarty, S.K., 2013. Gibberellic acid in plant: Still a mystery unresolved. *Plant Signaling & Behavior*, 8(9), p.e25504. https://doi.org/10.4161/psb.25504

Gutiérrez Hernández, G.F., Ortiz Hernández, Y.D., Corzo Ríos, L.J. and Aquino Bolaños, T., 2020. Composición química y germinación de semillas de tobalá (*Agave potatorum*). *Interciencia*, 45(5), pp.223–228. < https://www.redalyc.org/journal/339/33963402007/html/

Hatami, M., 2017. Toxicity assessment of multi-walled carbon nanotubes on *Cucurbita pepo* L. under well-watered and water-stressed conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142, pp.274–283. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.018

Ikhtiari, R., BEGUM, P., WATARI, F. and FUGETSU, B., 2013. Toxic Effect of Multiwalled Carbon Nanotubes on Lettuce (*Lactuca Sativa*). https://doi.org/10.11344/nano.5.18

ISTA, 2020. International Rules for Seed Testing. *International Rules for Seed Testing*.

Juárez-Cisneros, G., Gómez-Romero, M., Reyes De La Cruz, H., Campos-García, J. and Villegas, J., 2020. Multi-walled carbon nanotubes produced after forest fires improve germination and development of *Eysenhardtia polystachya*. *PeerJ*, 8, p.e8634. https://doi.org/10.7717/peerj.8634

Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F. and Biris, A.S., 2009. Carbon Nanotubes Are Able To Penetrate Plant Seed Coat and Dramatically Affect Seed Germination and Plant Growth. *ACS Nano*, 3(10), pp.3221–3227. https://doi.org/10.1021/nn900887m

Lahiani, M.H., Dervishi, E., Chen, J., Nima, Z., Gaume, A., Biris, A.S. and Khodakovskaya, M.V., 2013. Impact of Carbon Nanotube Exposure to Seeds of Valuable Crops. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(16), pp.7965–7973. https://doi.org/10.1021/am402052x

Lechuga-Campuzano, J.L., Arzate-Fernández, A.M., García-Núñez, H.G., Mariezcurrena-Berasaín, M.D. and Reyes Díaz, J.I., 2025. Viability and morphometry in agave seeds as an initial study for sustainable management and genetic preservation. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, [online] 28(2), pp.066 https://doi.org/10.56369/tsaes.6193

Martínez González, M. de la L., 2021. Nanotubos de carbono (NTC) y su efecto en la germinación y otros parámetros fisiológicos determinados en plántulas de pepino *(Cucumis sativus)*. [online] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Available at: http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/48068/K%2067260%20Martínez%20González,%20María%20de%20la%20Luz.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Martínez-Ramírez, S., Trinidad-Santos, A., Bautista-Sánchez, G. and Pedro-Santos, E.C., 2013. Crecimiento de plántulas de dos especies de mezcal en función del tipo de suelo y nivel de fertilización. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(4), p.387. https://doi.org/10.35196/rfm.2013.4.387

Morales Pizarro, A., Rondoy-Castro, D., Escobedo-Huancas, P., Durante-Montejo, E., Veramatus-Mendoza, A., Juárez-Vílchez, J., Morocho-Romero, H., Chanduvi-García, R., Quiroz-Calderón, M., Calero-Merino, M. and Peña-Castillo, R., 2025. Dosis y tiempos de imbibición de peróxido de hidrógeno en la germinación y crecimiento inicial de algodón (*Gossypium barbadense* L.). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, [online] 28(1), pp.013. https://doi.org/10.56369/tsaes.5660

Nelson, M.N., Nesi, N., Barrero, J.M., Fletcher, A.L., Greaves, I.K., Hughes, T., Laperche, A., Snowdon, R., Rebetzke, G.J. and Kirkegaard, J.A., 2022. Strategies to improve field establishment of canola: A review. In: *Advances in Agronomy*. [online] Elsevier. pp.133–177. https://doi.org/10.1016/bs.agron.2022.05.001

Pérez Mendoza, C., Hernández Livera, A., González Cossio, F.V., García de los Santos, G., Carballo Carballo, A., Vásquez Rojas, T.R. and Tovar Gómez, M. del R., 2006. Tamaño de semilla y relación con su calidad fisiológica en variedades de maíz para forraje. *Agricultura técnica en México*, [online] 32(3). Available at: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172006000300010

Ratnikova, T.A., Podila, R., Rao, A.M. and Taylor, A.G., 2015. Tomato Seed Coat Permeability to Selected Carbon Nanomaterials and Enhancement of Germination and Seedling Growth. *The Scientific World Journal*, 2015(1), p.419215. https://doi.org/10.1155/2015/419215

Rodríguez Romero, A.J., Robles Salazar, C.A., Ruíz Picos, R.A., López López, E., Sedeño Díaz, J.E. and Rodríguez Dorantes, A., 2014. Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, [online] 30(3). Available at: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37031522007

Ruiz Mondragón, K.Y., Klimova, A., Aguirre-Planter, E., Valiente-Banuet, A., Lira, R., Sanchez-de La Vega, G. and Eguiarte, L.E., 2023. Differences in the genomic diversity, structure, and inbreeding patterns in wild and managed populations of *Agave potatorum* Zucc. used in the production of Tobalá mezcal in Southern Mexico. *PLOS ONE*, 18(11), p.e0294534. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294534

Taiz, L., 2002. *Fisiología vegetal*. Translated by B. Blat Egea Sunderland, Ma.: Universitat Jaume.

Tiwari, D.K., Dasgupta-Schubert, N., Villaseñor Cendejas, L.M., Villegas, J., Carreto Montoya, L. and Borjas García, S.E., 2014. Interfacing carbon nanotubes (CNT) with plants: enhancement of growth, water and ionic nutrient uptake in maize (*Zea mays*) and implications for nanoagriculture. *Applied Nanoscience*, 4(5), pp.577–591. https://doi.org/10.1007/s13204-013-0236-7

Torres, I., Casas, A., Vega, E., Martínez-Ramos, M. and Delgado-Lemus, A., 2015. Population Dynamics and Sustainable Management of Mescal Agaves in Central Mexico: *Agave potatorum* in the Tehuacán-Cuicatlán Valley. *Economic Botany*, 69(1), pp.26–41. https://doi.org/10.1007/s12231-014-9295-2

Tripathi, S., Sonkar, S.K. and Sarkar, S., 2011. Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes. *Nanoscale*, 3(3), p.1176. https://doi.org/10.1039/c0nr00722f

Valdivia-Medina, R.Y., Pedro-Valdés, S. and Laurel-Gómez, M., 2010. Agua para uso en laboratorios. *Boletín Científico Técnico INIMET*, (1), pp.3–10.

Velásquez Baldizón, D., 2009. Evaluación del efecto de pre-germinación, ácido giberélico y enfriamiento post-siembra en la germinación de semillas de lechuga *(Lactuca sativa L.),* Zamorano, Honduras. [online] Escuela Agricola Panamericana. Available at: https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/cf8a6a33-8cde-44c3-b1e7-c9ad128bcba5/content

Villavicencio Gutiérrez, E.E., Torres-Tapia, Ma.A., Méndez-González, J., Curiel-López, C. and Sánchez-Pérez, F., 2024. Germinación de semillas en *Agave potatorum* Zucc. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 15(86), pp.31–51. https://doi.org/10.29298/rmcf.v15i86.1403

William, R.L., 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales: con especial referencia a los trópicos. Roma: FAO.

Yan, S., Zhao, L., Li, H., Zhang, Q., Tan, J., Huang, M., He, S. and Li, L., 2013. Single-walled carbon nanotubes selectively influence maize root tissue development accompanied by the change in the related gene expression. *Journal of Hazardous Materials*, 246–247, pp.110–118. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.12.013