



Potencialidades de las nanopartículas de quitosano en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.)

Potentialities of chitosan nanoparticles in rice cultivation (*Oryza sativa* L.)

 Aida Tania Rodríguez Pedroso^{1*},  Miguel Ángel Ramírez Arrebato¹,  Maribel Plascencia Jatomea²

¹Unidad Científico Tecnológica de Base “Los Palacios”. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

²Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, Col. Centro, PO Box 1658, Hermosillo, Sonora, México. CP 83 000

RESUMEN: Las nanopartículas de quitosano (NPQ) son compuestos que tienen un gran potencial en la agricultura moderna debido a los desafíos que esta enfrenta como el cambio climático, la severidad de las enfermedades y la limitada disponibilidad de importantes nutrientes para las plantas. Por lo que, este artículo presenta una revisión de la literatura sobre las NPQ, sus diferentes usos en la agricultura, métodos de obtención, las aplicaciones en el cultivo del arroz como bioestimulante, antifúngico e inductor de resistencia contra *Pyricularia oryzae*.

Palabras clave: germinación, nanotecnología, biocompuestos.

ABSTRACT: Chitosan nanoparticles (CSNP) are compounds that have great potential in modern agriculture due to the challenges they face such as climate change, the severity of diseases, and the limited availability of important nutrients for plants. Therefore, this article presents a review of the literature on CSNP, their different uses in agriculture, their methods of obtaining them, applications in rice cultivation as a biostimulant, antifungal and resistance inducer against *Pyricularia oryzae*.

Key words: germination, nanotechnology, biocomposite.

INTRODUCCIÓN

La creciente población mundial demanda alimentos y otros insumos, por lo cual el desafío que enfrentan los investigadores agrícolas en el siglo XXI es innovar y generar tecnologías para producir la cantidad de comida suficiente y con calidad para alimentar a la creciente población mundial, pero sin degradar la salud del suelo y los agroecosistemas (1). Se ha estimado que la producción mundial de alimentos debe aumentar entre 70 y 100% para el año 2050 para poder satisfacer la demanda cada vez mayor de la población que continúa en constante aumento (2). Sin embargo, la producción agrícola sigue estando

afectada por una gran cantidad de plagas de insectos, enfermedades y malezas (3).

En las últimas décadas, se ha incrementado el uso de agroquímicos (sustancias como fungicidas, insecticidas, herbicidas, rodenticidas, fertilizantes, estimulantes del crecimiento de las plantas, etc.) en diferentes cultivos donde China, Estados Unidos de América y Argentina son los principales consumidores de estos productos (4).

El arroz es uno de los cultivos de mayor demanda en el mundo y su consumo ha aumentado en las últimas décadas, con el consiguiente incremento en la aplicación de herbicidas, insecticidas y fungicidas, durante diversas fases del cultivo para incrementar su producción.

*Autor para correspondencia: atania@inca.edu.cu

Recibido: 09/02/2023

Aceptado: 16/08/2024

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Conceptualización:** Aida Tania Rodríguez Pedroso, Miguel Ángel Ramírez Arrebato. **Revisión del tema en INTERNET:** Aida Tania Rodríguez Pedroso, Miguel Ángel Ramírez Arrebato, Maribel Plascencia Jatomea. **Escritura del borrador inicial:** Aida Tania Rodríguez Pedroso y Maribel Plascencia Jatomea. **Escritura y edición final:** Aida Tania Rodríguez Pedroso, Miguel Ángel Ramírez Arrebato

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



En Cuba, el arroz constituye el alimento básico de la dieta de los cubanos y el consumo de la población está en más de 75 kg per cápita. Tiene una gran dependencia de los productos químicos para su producción que son altamente costosos y tóxicos para el hombre y el medio ambiente. Es por ello, que se investiga en la búsqueda de nuevos productos naturales, más económicos, biodegradables y no tóxicos.

Entre los compuestos de origen natural y con una gama amplia de aplicaciones relacionada directamente con la agricultura se encuentra la quitina y, especialmente, su derivado más conocido: el quitosano. Este principio activo ha sido utilizado en la protección fúngica de semillas y plántulas, como bioestimulante del crecimiento e inductor de mecanismos de defensa en plantas, en la protección post-cosecha de flores y frutos, en la fabricación de películas para embalaje de productos agropecuarios, etc (5). En el arroz, este compuesto ha demostrado tener actividad antimicrobiana sobre patógenos de importancia económica, ser inductor de resistencia y ha estimulado la germinación de la semilla, variables del crecimiento y los componentes del rendimiento (6-9).

Es por ello, que la aplicación de nanopartículas contribuye a que las plantas tengan una mejor absorción de nutrientes, resistencia a los daños, además de una mejor producción y calidad en las cosechas. Existen diferentes métodos de síntesis de nanomateriales, estos pueden ser físicos, químicos o donde se depositan nanopartículas sobre soportes como son: adsorción iónica, precipitación, de coloides y fotoquímico (10).

Debido al conocimiento derivado de la utilidad de este biocompuesto, se busca la forma de optimizar sus aplicaciones en el área agrícola mediante la nanotecnología como una estrategia integral hacia la sostenibilidad en la productividad, en la obtención de altos rendimientos y la protección vegetal. Es objetivo de esta revisión documentar sobre las potencialidades de esta nueva tecnología en cultivos de importancia económica como es el arroz.

DESARROLLO

La nanotecnología y sus aplicaciones en la agricultura

Las llamadas nanociencias y nanotecnologías se han ido constituyendo en las principales áreas del desarrollo científico tecnológico en los últimos veinte años (11). La nanotecnología es una nueva ciencia que involucra la manipulación y uso de materiales con tamaños inferiores al micrómetro.

La palabra nano es un prefijo cuyo significado es enano, adjetivo que se aplica para indicar tamaño más pequeño que el promedio, generalmente de una persona. Cuando se usa como prefijo de alguna unidad de medida significa la milmillonésima parte de ésta ($1 \text{ nano} = 1 \times 10^{-9}$) (12). Según la definición de la Organización Internacional de Estandarización (ISO, International Organization for

Standardización) se consideran como nanopartículas (NPs) aquellas porciones de materia cuyas tres dimensiones externas caen dentro del rango de la nanoescala (entre 1-100 nm) (13). La fortaleza de la nanotecnología reside, básicamente, en hacer productos más eficientes, multifuncionales y ahorradores de materia prima. Dentro del mercado mundial, en la nanotecnología, está en aumento el interés por las NPs y los nanocompuestos. Durante los últimos años se ha extendido el estudio de los llamados nanomateriales (NMs) y los materiales nanoestructurados, cuya característica principal es el tamaño de las fases involucradas, que se encuentra en el orden de los nanómetros (14).

Dentro de las aplicaciones que la nanotecnología está considerando en el sector agrícola se encuentra el desarrollo de químicos como fertilizantes, herbicidas y reguladores del crecimiento, para incrementar la producción agrícola. Otras aplicaciones en este sector son: los nanosensores para la detección de patógenos de plantas y la utilización de NMs para la estabilización de bioplaguicidas, entre otras (15,16). Como ventajas permite reducir al mínimo las pérdidas de nutrientes en la fertilización y mejorar la productividad de los cultivos a través de la optimización del uso del agua y los nutrientes (17,18).

Se ha demostrado que la encapsulación de los ingredientes activos en NPs aumenta la eficacia de sus ingredientes químicos, ya que se permiten reducir su volatilización, lixiviación y se puede reducir la toxicidad y contaminación de los agroecosistemas usando estos nanoprodutos (19). Las NPs que se utilizan para mejorar la eficiencia de los plaguicidas permiten aplicar en el campo menores dosis del producto (20).

Aplicaciones de nanopartículas de quitosano en la agricultura

En los últimos años numerosos biopolímeros tales como almidón, celulosa, alginato, quitina y quitosano han sido utilizados para el desarrollo de nuevos materiales con sostenibilidad ambiental y funcionalidad deseable (21).

En cuanto al quitosano, es una forma desacetilada de la quitina, el cual es un copolímero lineal de 2-acetamida-e-deoxy- β -D-glucopiranososa y 2-amino-2-deoxy- β -D-glucopiranososa. Este polímero es el segundo más abundante de la naturaleza después de la celulosa y se encuentra en el exoesqueleto de crustáceos, cutícula de insectos y pared celular de los hongos (22). Entre sus propiedades ventajosas están: la abundancia, biocompatibilidad, biodegradabilidad, seguridad y no toxicidad. Además de sus características físico químicas, como tamaño, área superficial, naturaleza catiónica, grupos funcionales activos, mayor eficiencia de encapsulación, facilidad de mezcla con otros componentes, etc (23). Es por ello, que las nanopartículas de quitosano (NPQ) pueden ser aplicadas como antifúngicas (24), antibacteriales (25-27), promotoras del crecimiento en las plantas (28-30) y nano fertilizantes (31).

Las NPQ han demostrado impactar en las características biofísicas de las plántulas de café incrementando el contenido de pigmentos, la velocidad de la fotosíntesis y la absorción de nutrientes, etc (32).

Aunque existen muchos trabajos sobre la aplicación de quitosano en la agricultura, no se han realizado muchos utilizando las NPQ. En la siguiente tabla se aprecian varias aplicaciones de los NPQ en diferentes cultivos (Tabla 1).

Obtención de nanopartículas de quitosano

Las nanopartículas de quitosano (NPQ) fueron descritas, por primera vez, en 1994 (38). Desde entonces, muchos métodos han sido empleados para la síntesis de nanopartículas de quitosano. Entre los diversos métodos se encuentran: gelación ionotrópica, pulverización/secado, coacervación/precipitación, emulsificación reversa y complejación polielectrolítica (Tabla 2).

Aplicaciones de las nanopartículas de quitosano en el cultivo del arroz

Las dificultades para controlar las plagas, junto a la preocupación por el uso indiscriminado de pesticidas en la agricultura han sido objeto de intenso debate y discusión. Actualmente, se trabaja en buscar métodos alternativos de control de plagas, para reducir la dependencia de pesticidas sintéticos (44). Es el caso de las nanopartículas de quitosano (NPQ) que se utilizaron como un vehículo del ácido protocatecuico (APC) para inducir la resistencia

contra *Pyricularia oryzae*, donde las NPQ transportaban las moléculas de APC dentro de las células fúngicas, exhibiendo un fuerte efecto antimicrobiano sobre el hongo. Por lo que, se recomienda realizar pruebas en plantas de arroz *in vitro* para reafirmar esta posibilidad (45). También, otros investigadores (46) obtuvieron nanopartículas de quitosano guar (NPQG) por el método de gelación iónica, la aplicaron a semilla de arroz y observaron estimulación en la germinación y crecimiento de las plántulas. Además, de demostrar la inhibición del crecimiento de dos patógenos que provocan daños al arroz: *Pyricularia grisea* y *Xanthomonas oryzae*, en condiciones *in vitro*. Estos mismos autores, trataron hojas de arroz de 30 días de edad con una solución de 0.1 % de NPQG, se incubaron por 24 h y, posteriormente, se inocularon con 0.5 mL por hoja de una concentración de 1×10^5 esporas/mL de *P. grisea* y, a los 14 días se evaluó la incidencia de la enfermedad y no se observaron síntomas de la misma.

Otras NPQ sintetizadas también por el método de gelificación iónica a la concentración de 0,0065 % se aplicaron en arroz de trasplante y después se inoculó con *Xanthomonas oryzae* pv. Los resultados mostraron que la aplicación de NPQ fue capaz de aumentar la expresión de genes de resistencia con respecto al control; sin embargo, no fue capaz de suprimir el desarrollo de la infección (47).

También otros investigadores (48) prepararon nanopartícula de quitosano-níquel (NPQ-Ni) utilizando cloruro de níquel y evaluaron el crecimiento e inhibición de *Pyricularia oryzae*. Para ello aplicaron de NPQ-Ni

Tabla 1. Aplicaciones de nanopartículas de quitosano en la agricultura

Compuestos	Cultivos	Aplicaciones	Referencia
Nanopartículas de quitosano	Fresa	Protección postcosecha	(33)
Nanopartículas de quitosano	Café robusta	Estimulación del crecimiento	(28)
Nanopartículas de quitosano	Manzana	Protección postcosecha	(34)
Nanopartículas de quitosano-NPK	Trigo	Estimulación del crecimiento y rendimiento	(35)
Nanopartículas de quitosano	Chile	Actividad antifúngica	(36)
Nanopartículas de quitosano con cobre (Cu)	Tomate	Estimulador de la germinación, crecimiento y antifúngico	(29)
Nanopartículas de quitosano/tripolifosfato		Herbicida	(37)
Nanopartículas de quitosano-Cobre (Cu)	Maíz	Estimulador del crecimiento	(30)

Tabla 2. Métodos más empleados para la obtención de nanopartículas de quitosano (NPQ)

Método	Solución Problema	Medio (Con)	Agente de Formación de nanopartículas	Separación de nanopartículas
Gelación Ionotrópica (39)	Solución de Quitosano	Ácido acuoso (1mg/mL)	Polianión de bajo peso molecular Tripolifosfato Pentasódico (TTP), Adenosintrifosfato (ATP)	Centrifugación
Pulverización/ Secado (40)	Solución de Quitosano	Ácido acuoso (HAc-0.5%v/v)	Pulverización/ Gas de Secado	Filtro
Coacervación/ Precipitación (41)	Solución de Quitosano (Empleo de Surfactantes)	Ácido acuoso	Solución de Sulfato de Sodio	Filtración con membranas de 400 nm. Centrifugación
Emulsificación Reversa (42)	Solución de Quitosano	Acuoso	Agente Entrecruzante Covalente	Decantación/ Dialización/ Liofilización
Complejación Polielectrolítica (43)	Solución de Quitosano	Ácido acuoso	Polianión de naturaleza macromolecular	Centrifugación

a semillas de arroz las cuales mostraron un aumento significativo en la germinación y longitud de brotes y raíces y número de raíces laterales sobre el control. Además, el tratamiento con nanopartículas en plantas en condiciones de invernadero demostró una mejora notable en las condiciones de crecimiento de las plantas y no mostró toxicidad. Además, se exhibieron síntomas reducidos de piriculariosis en hojas tratadas con nanopartículas sobre el control en condiciones de invernadero, mientras que mostraron una inhibición del micelio del 64 % en Placas de Petri. Todos estos resultados sugieren que las NPQ-Ni podrían utilizarse como promotor del crecimiento de las plantas y para controlar la enfermedad del añublo del arroz.

La estimulación del crecimiento de plántulas de arroz también fue apreciada por Panatda y Duangdao (49), quienes, primeramente, obtuvieron las NPQ y trataron las semillas de arroz a diferentes concentraciones (10, 50, 100 y 500 ppm) de este compuesto, a las dos semanas comprobaron que la mayor estimulación del crecimiento fue lograda con las concentraciones de 100, 50 y 10 ppm. Sin embargo, las plántulas obtenidas a partir de semillas tratadas a las concentraciones de 500 y 1000 ppm no sobrevivieron. Estas mismas plántulas fueron expuestas a saltamontes marrones (*Chorthippus brunneus*) y se le evaluó la actividad quitinasa. Observando un incremento moderado en la actividad de esta enzima en las plántulas que fueron tratadas con las concentraciones de 10, 50 y 100 ppm, y mostraron resistencia al ataque del patógeno con respecto al control, el cual consistió en plántulas obtenidas a partir de semillas tratadas con agua.

Divya y colaboradores (50) prepararon NPQ utilizando el método de gelación ionotrópica. Posteriormente, trataron semillas de arroz con diferentes concentraciones de NPQ (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg.mL⁻¹) a diferentes tiempos de imbibición (15, 30, 60, 90 y 120 min). Los resultados mostraron que todos los tratamientos con NPQ fueron mejores que el control (sin tratamiento). El tratamiento de 1mg.mL⁻¹ con 120 minutos de imbibición logró el más elevado porcentaje de germinación y mayores tasas de crecimiento (número de hojas, altura, masa y vigor de la planta) a los 21 días después de sembradas. Aplicando la misma concentración de NPQ (1mg mL⁻¹) a la semilla de arroz, suelo, foliar y la combinación, el colectivo de autores (51) encontraron que el tratamiento combinado de semilla, suelo y aplicación foliar era el más eficiente. También se estudió la toxicidad de NPQ en el suelo antes de su aplicación y se encontró que no era tóxico. Por su parte, Soni, Rookes, Arya (52) sintetizaron NPQ utilizando un método de gelificación iónica y aplicaron estos compuestos en semillas de arroz las cuales se cultivaron en concentraciones crecientes de NaCl. Donde se mostró un efecto significativamente mayor sobre la germinación, el vigor de las plántulas y las respuestas bioquímicas y antioxidantes en comparación con las semillas de control.

Nanopartículas de oligosacáridos de quitosano modificado con lantano fueron preparados por reticulación iónica y se aplicó a semillas de arroz a las concentraciones de 6.25, 12.5, 25, 50 y 100 µg mL⁻¹ y sembradas en un hidropónico, a

los 15 días se determinó la altura y la masa fresca de la parte aérea. Los resultados evidenciaron el incremento de estas variables con la aplicación del nanocompuesto con respecto al control (53).

CONCLUSIONES

En las investigaciones realizadas se demuestra que las NPQ tienen efecto positivo sobre diferentes cultivos, tanto *in vitro* como en condiciones semicontroladas. En el caso del arroz, han demostrado tener efecto bioestimulante y protector contra *Pyricularia oryzae*, por lo que estos compuestos pudieran ser utilizados en la agricultura haciéndola más sostenible.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bharadwaj DN. Chapter 2. Sustainable agriculture and plant breeding. En Al-Khayri JM, Mohan S, Johnson D (Eds.) *Advances in plant breeding strategies: agronomic, abiotic and biotic stress*. 2016, pp.3-34, Estados Unidos: Springer International Publishing. ISBN:978-3-319-22517-3 doi:10.1007/978-3-319-22518-0_1.
2. OCDE/FAO Perspectivas Agrícolas 2019-2028, OECD Publishing, París/Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), Roma. 2019 <https://doi.org/10.1787/7b2e8ba-es>
3. Fried G, Chauvel B, Reynaud P, Sache I. Decreases in crop production by non-native weeds, pest and pathogen. En Vila M nd Hulme P. *Impact of biological Invasions on Ecosystem Service*. 2017; pp.83-101, Estados Unidos: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-45121-3-6>
4. Sharma A, Kumar V, Shahzad B, Tanveer M, Sidhu GPS, Handa N, et al. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*. 2019; 1, 1446. doi: <https://dx.doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1>
5. Lárez-Velásquez C. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*. 2008; 8(1):1-22. ISSN-e 1317-9152
6. Rodríguez AT, Ramírez MA, Cárdenas RM, Hernández AN, Velázquez MG, Bautista S. Induction of defense response of *Oryza sativa* L. against *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. by treating seeds with chitosan and hydrolyzed chitosan. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2007; 89(3):206-15, ISSN 0048-3575. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2007.06.007>
7. Molina Zerpa JA, Colina Rincón M, Rincón A, Vargas Colina JA. Efecto del uso de quitosano en el mejoramiento del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L. variedad sd20a). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 2017. 8(2),julio-diciembre, ISSN 2145-6097
8. Ramírez-Arrebato MA; Rodríguez-Pedroso AT, Bautista-Baños S, Ventura-Zapata E. Chapter 4. Chitosan Protection from Rice Diseases. 2016; p.115-126. In: Silvia Bautista-Baños editors: *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities*, Oxford: Academic Press 366p. ISBN:9780128027356

9. Toan NV, Hanh TT. Application of chitosan solutions for rice production in Vietnam. *African Journal of Biotechnology*. 2013;12(4), 382-384, ISSN:1684-5315. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2884>
10. Borja-Borja JM, Rojas-Oviedo BS. *Nanomateriales: Métodos de síntesis*. Polo Científico. 2020; 5(08) agosto: 426-445, ISSN:2550-682X. <https://doi.org/10.23857/pc.v5i8.1597>
11. Gulín-González. Tercer seminario internacional de nanociencias y nanotecnologías. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. 2010;41(2) mayo-agosto:144-145, ISSN:1015-8553, <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181620526008>
12. Lárez-Velásquez C, Koteich-Khatib S, López-González F. Capítulo 8. Quitosano y nanopartículas. En: *Nanotecnología y aplicaciones*. Editores: Lárez-Velásquez C, Koteich-Khatib S, López-González F. 2015, 203-223. ISBN 978-980-12-8382-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.039>
13. ISO/DTS 80004-2:2015. *Nanotechnologies-Vocabulary-Part 2: Nano-objects*. Disponible en: <https://www.iso.org/standard/54440.html>
14. Sotelo Boyás ME, Bautista Baños S, Aldana Llanos L, Solorza Feria J, Jiménez Aparicio A, Barrera Necha LL, et al. Capítulo 12. La nanotecnología en el control de microorganismos patógenos e insectos de importancia económica. En: *Nanotecnología y aplicaciones*. Editores: Lárez-Velásquez C, Koteich-Khatib S, López-González F. 2015, 203-223. ISBN 978-980-12-8382-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.039>. 2015. 295-309
15. Chen H, Yada R. Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development. *Trends Food Technology*. 2011;22, 585-94. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.09.004>
16. Ghormade V, Deshpande M, Paknikar. Perspectives for nano-biotechnology enable protection and nutrition of plants. *Biotechnology Advances*. 2011. 29(6):792-803. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.06.007>
17. Dubey A, Mailapalli DR. Nanofertilizers, nano pesticides, nanosensors of pest and nanotoxicity in agriculture. En Lichtfouse E.(ed) *Sustainable Agriculture Reviews*. 2016;307-30. Springer International Publishing Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26777-7_7
18. Rameshaiah G, Pallavi J, Shabnam S. Nano fertilizers and nano sensors an attempt for developing smart agriculture. *International Journal of Engineering Research and General Science*. 2015; 3(1);314-20.ISSN 2091-2730
19. Cota O, Cortez M, Burgos A, Ezquerro J, Plasencia M. Controlled release matrices and micro/nanoparticles of chitosan with antimicrobial potential: development of new strategies for microbial control in agriculture. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013;93(7):1525-36. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6060>
20. Patil C, Borase H, Patil S, Salunkhe R, Salunke H. Larvicidal activity of silver nanoparticles synthesized using *Pergularia daemia* plant latex against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi* and nontarget fish *Poecilia reticulata*. *Parasitology Research*. 2012; 111(2), 555-62. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2867-0>
21. Babu RB, O'Connor K, Seeram R. Current progress on bio-based polymers and their future trends. *Progress in Biomaterials* 2. 2013;8. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/2194-0517-2-8>
22. Piras AM, Maisetta G, Sandreschia S, Esinb S, Gazzarria M, Batoni G, et al. Preparation, physical-chemical and biological characterization of chitosan nanoparticles loaded with lysozyme. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;67:124-31. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.016>
23. Oh JW, Chun SC, Chandrasekaran M. Preparation and *in vitro* characterization of chitosan nanoparticles and their broad-spectrum antifungal action compared to bacterial activities against phytopathogens of tomato. *Agronomy*. 2019;9(21):2-12. <https://doi.org/10.3390/agronomy9010021>
24. Saharan V, Mehrotra A, Khatik R, Rawal P, Sharma SS, Pal A. Synthesis of chitosan based nanoparticles and their *in vitro* evaluation against phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2013;62:677-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.10.012>
25. Qi L, Xu Z, Jiang X, Hu C, Zou X. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research*. 2004;339:2693-2700. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.09.007>
26. Du WL, Niu SS, Xu YL, Xu ZR, Fan CL. Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. *Carbohydrate Polymers*. 2009;75(3):385-89. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.07.039>
27. Ali SW, Rajendran S, Joshi M. Synthesis and characterization of chitosan and silver loaded chitosan nanoparticles for bioactive polyester. *Carbohydrate Polymers*. 2011;83(2):438-46. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.004>
28. Van SN, Minh HD, Anh DN. Study on chitosan nanoparticles on biophysical characteristics and growth of Robusta coffee in green house. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2013;2(4):289-94. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.06.001>
29. Saharan V, Sharma G, Yadav M, Choudhary MK, Sharma SS, Pal A, et al. Synthesis and *in vitro* antifungal efficacy of Cu-chitosan nanoparticles against pathogenic fungi of tomato. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015;75:346-53. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.027>
30. Saharan V, Kumaraswamy RV, Choudhary RC, Kumari, Pal A, Raliya P et al. Cu-chitosan nanoparticle mediated sustainable approach to enhance seedling growth in maize by mobilizing reserved food. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 2016;64(31):6148-55. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02239>
31. Corradini E, de Moura MR, Mattoso LHC. A preliminary study of the incorporation of NPK fertilizer into chitosan nanoparticles. *Express Polymer Letters*. 2010;4(8):509-15. <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2010.64>

32. Dzung NA, Khanh VTP, Dzung TT. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymers*. 2011;84(2):751-55. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.066>
33. García-García DJ, Pérez -Sánchez GF, Hernández-Cocoletzi H, Sánchez-Arzuabe MG, Luna-Guevara ML, Rubio-Rosas E, Krishnamoorthy R, Morán-Raya C. Chitosan coatings modified with nanostructured ZnO for the preservation of strawberries. *Polymers (Basel)*. 2023 sep 15;15(18):3772. <https://doi.org/10.3390/polym15183772>
34. Pilon L, Spricio PC, Miranda M, Moura MR, Assis OBG, Mattoso LHC. Chitosan nanoparticle coatings reduce microbial growth on fresh-cut apples while not affecting quality attributes. *International Journal of Food Science and Technology*. 2014;50(2):440-48. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12616>
35. Abdel-Aziz HM, Hasaneen MN, Omer AM. Nano chitosan-NPK fertilizer enhances the growth and productivity of wheat plants grown in sandy soil. *Spanish Journal Agricultural Research*. 2016;14(1),e0902, eISSN:2171-9292. doi: <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2016141-8205>
36. Chookhongkha N, Sopondilok T, Photchanachai S. Effect of chitosan and chitosan nanoparticles on fungal growth and chilli seed quality. *Acta Horticulturae*. 2013;973:231-37. doi: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.973.32>
37. Grillo R, Pereira AE, Nishisaka CS, de Lima R, Oehlke K, Greiner R et al. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: an environmentally safer alternative for weed control. *Journal of Hazardous Materials*. 2014; 278, 163-71. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.05.079>
38. Ohya Y, Shiratani M, Kobayashi H, Ouchi T. Release behavior of 5-Fluorouracil from chitosan-gel nanospheres immobilizing 5-fluorouracil coated with polysaccharides and their cell specific cytotoxicity. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*. 1994;31(5):629-42. <https://doi.org/10.1080/10601329409349743>
39. Nasti A, Zaki NM, Leonardis PD, Ungphaiboon S, Sansongsa P, Rimoli MG, et al. Chitosan/TPP and chitosan/TPP-hyaluronic acid nanoparticles: systematic optimization of the preparative process and preliminary biological evaluation. *Pharmaceutical Research*. 2009;26(8):1918-30. <https://doi.org/10.1007/s11095-009-9908-0>
40. Kim LT, Wang SL, Hiep DM, Luoung PM, Vui NT, Dihn TM, Dzung NA. Preparation of chitosan nanoparticles by spray drying, and their antibacterial activity. *Research on Chemical Intermediates*. 2014;40(6):2165-75. <https://doi.org/10.1007/s11164-014-1594-9>
41. Tavares IS, Caroni ALPF, Neto AD, Pereira MR, Fonseca JLC. Surface charging and dimensions of chitosan coacervated nanoparticles. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*. 2012;90:254-58. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.10.025>
42. Mitra S, Gaur U, Ghosh PC, Maitra AN. Tumour targeted delivery of encapsulated dextran-doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. *Journal Controlled Release*. 2001;74(1-3):317-323. [https://doi.org/10.1016/s0168-3659\(01\)00342-x](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(01)00342-x)
43. Agirre M, Zarate J, Ojeda E, Puras G, Desbrieres J, Pedraz JL. Low Molecular Weight Chitosan (LMWC)-based polyplexes for pDNA delivery: From bench to bedside. *Polymers*. 2014;6(6):1727-55. <https://doi.org/10.3390/polym606172>
44. Kashya PL, Xiang X, Heiden P. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015;77:36-51. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.039>
45. Pham TT, Nguyen TH, Thi TV, Nguyen TT, Le TD, Hoang Vo DM, et al. Investigation of chitosan nanoparticles loaded with protocatechuic acid (PCA) for resistance of *Pyricularia oryzae* fungus against rice blast. *Polymers*. 2019;11(177):1-10. <https://doi.org/10.3390/polym110177>
46. Sathiyabama M, Muthukumar S. Chitosan guar nanoparticle preparation and its in vitro antimicrobial activity towards phytopathogens of rice. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;153:297-304. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.001>
47. Siswanti S, Joko T, Subandiyah S. The role of nanochitosan on the expression of rice resistance genes against bacterial leaf blight. *Journal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 2020, 24(2): 115-121 DOI: [10.22146/jpti.44418](https://doi.org/10.22146/jpti.44418) Available online at <http://jurnal.ugm.ac.id/jpti> ISSN 1410-1637 (print), ISSN 2548-4788 (online)
48. Parthasarathy R, Jayabaskaran C, Manikandan A, Anusuya S. Synthesis of Nickel-Chitosan Nanoparticles for Controlling Blast Diseases in Asian Rice. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2023, 195:2134-2148. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-04198-8>
49. Panatda J, Duangdao C. Synthesized nanochitosan induced rice chitinase isoenzyme expression; application in brown planthopper (BPH) control. *NU. International Journal of Science*. 2015;12(1):25-37
50. Divya K, Vijayan S, Janardanan S, Jisha MS. Optimization of chitosan nanoparticle synthesis and its potential application as germination elicitor of *Oryza sativa* L. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.185>
51. Divya K, Thampi M, Vijayan S, Shabanamol S, Jisha MS. Chitosan nanoparticles as a rice growth promoter: evaluation of biological activity. *Archives of Microbiology*. 2021 Dec 29;204(1):95. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02669-w> . PMID: 34964906.
52. Soni AT, Rookes JE, Arya SS. Chitosan nanoparticles as seed priming agents to alleviate salinity stress in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Polysaccharides*. 2023; 4(2):129-141; <https://doi.org/10.3390/polysaccharides4020010>
53. Liang W, Yu A, Wang G, Zheng F, Hu P, Jia J et al. A novel water-based chitosan-La pesticide nanocarrier enhancing defense responses in rice (*Oryza sativa* L) growth. *Carbohydrate Polymers*. 2018;199:437-44. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.042>