

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Respuestas Fisiológicas y Morfológicas de Plantas de Acelga (*Beta vulgaris*) Cultivadas en Suelo Modificado con Nanomateriales de Zinc

Por:

JESÚS RAÚL BARAJAS MEDINA

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Respuestas Fisiológicas y Morfológicas de Plantas de Acelga (*Beta vulgaris*) Cultivadas en Suelo Modificado con Nanomateriales de Zinc

Por:

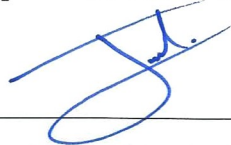
JESÚS RAÚL BARAJAS MEDINA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Josué Israel García López

Asesor Principal



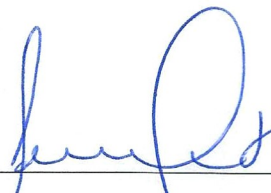
Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez

Coasesor



Dra. Sonia Noemí Ramírez Barrón

Coasesor



Dr. Jerónimo Landeros Flores

Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2022

DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

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

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

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

Pasante



Jesús Raúl Barajas Medina

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** principalmente por darme la vida, por haberme brindado salud y bienestar para continuar con mis estudios y salir adelante. Por acompañarme en este camino y estar presente en cada paso que doy, por ser la luz que ilumina mi camino y darme fuerzas para continuar cumpliendo mis sueños, por poner a las personas indicadas en mi camino y sobre todo por nunca dejarme solo.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, Por ser mi segunda casa, abrirme las puertas de sus aulas para adquirir el conocimiento y las experiencias necesarias para continuar con mi formación profesional. Además de brindarme amistades incondicionales las cuales hicieron más amena esta etapa importante, y sobre todo orgulloso de pertenecer a la mejor universidad de agronomía, con mucha alegría llego el día en que miro hacia atrás para ver el camino recorrido por los pasillos de mi “**Alma Mater**”.

A mis **Padres** José Alfredo Barajas y María Andrea Medina por cuidarme en todo momento, darme la mejor educación, los mejores consejos e inculcar valores muy importantes en mi formación. Por hacerme una persona de bien para la sociedad y siempre alentarme y apoyarme en mis decisiones. Gracias a ustedes puedo realizar un sueño más.

A mi asesor y profesor el **Dr. Josué Israel García López** por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación, brindarme la confianza y sobre todo su valiosa amistad. Por el apoyo, consejos, paciencia, dedicación y tiempo. Además de compartir un poco de sus grandes conocimientos y formar parte de esta etapa en mi formación profesional.

A mis **Coasesores** el **Dr. Perpetuo Álvarez** y la **Dra. Sonia Noemi Ramírez** por brindarme parte de su conocimiento, la confianza y el espacio donde trabajar de la mejor manera, siempre estaré agradecido por ser pieza fundamental durante el desarrollo del trabajo de investigación más importante de mi vida.

A mi tutor el **Dr. Humberto de León †**, le agradezco su gran amistad, consejos y por estar al pendiente de mis estudios, por la experiencia compartida. Fue un excelente profesor y amigo, agradezco a Dios por haberlo puesto en mi camino.

A mis Amigos **Javier López, Teresa Ocampo, Uriel Barreto, Alexis Rivera, Refugio Méndez, Jesús Torres, Antonio Ríos, Francisco Rodríguez, Ana Olivas, Magaly Gómez y Shaday Soto**, A cada uno de ustedes les agradezco infinitamente por brindarme su amistad, apoyo y darme la oportunidad de convivir y formar parte de sus vidas durante mi etapa en la universidad, por todas las risas y compartir las experiencias vividas, por ser más que mi segunda familia y enseñarme el valor del compañerismo, con orgullo “**Buitres por siempre**”.

Al **Departamento de Fitomejoramiento** por abrirme las puertas de sus instalaciones para continuar con mis estudios, a cada uno de los Doctores, Profesores y Trabajadores que lo

conforman. Por siempre estar al pendiente de la enseñanza y perfecta formación profesional de los jóvenes de distintas partes del país, que al igual que yo vienen a cumplir sus sueños de desempeñar una de las más nobles profesiones.

A **YSAGRO Peribàn** por darme la oportunidad de realizar mis prácticas profesionales y así poder ampliar el conocimiento adquirido en las aulas. Por brindarme la mejor de las atenciones, consejos, experiencias y conocimiento. Siempre estaré agradecido con el equipo de trabajo, El compañero **Antonio** y a los Ingenieros **Daniel Navarro, Said Hernández, José Oseguera, Rodrigo Cruz** y **Bernardo Esquivel**.

DEDICATORIA

A mi Padre **José Alfredo Barajas Sánchez**, Gracias por la herencia más valiosa que puedo recibir, el estudio. Este gran logro es para usted que con esfuerzo y sacrificio logro formar un profesionalista de mí, con orgullo puedo decir que usted es mi ejemplo a seguir y ni con todas las riquezas del mundo podré pagar todo su amor, comprensión y paciencia, gracias por inculcarme el valor del trabajo honesto y la perseverancia, gracias por darme tantas lecciones de vida, por ayudarme en todos mis proyectos y creer en mí, además de darme la oportunidad de salir adelante en mis estudios.

A mi Madre **María Andrea Medina Pegueros**, Gracias por tanto amor, cariño, comprensión y paciencia, por estar presente en cada etapa de mi vida, por alentarme y apoyarme a realizar mis sueños, le agradezco por cuidarme en todo momento y guiarme por el mejor camino hacia el éxito, a usted madre mía quien es pilar importante en mi vida, siéntase orgullosa de que sus consejos y buenos deseos rindieron frutos, que sus bendiciones en las ocasiones que tuve que partir de casa para ser alguien mejor fueron bien recibidas, con toda la satisfacción del mundo hoy puedo decir “ lo logramos”.

A mis Hermanos **Alfredo, Israel y Melisa** les agradezco por siempre estar cuando lo necesite, por confiar en mí y mis capacidades, por estar siempre unidos en todo momento a pesar de las circunstancias, de ustedes aprendí a no rendirme jamás, a ver el lado positivo de las cosas. Gracias a su cariño este sueño fue posible, los quiero mucho hermanos.

A mis Abuelos **José Barajas Betancourt † y Ramón Medina Sánchez †**, Aunque ya no estén a mi lado para compartir este triunfo con ustedes, les agradezco infinitamente por inculcarme desde muy pequeño el valor del trabajo y honradez, por darme los mejores consejos llenos de sabiduría, por las buenas charlas y sobre todo gracias por el cariño que siempre me brindaron.

Donde quiera que estén espero que estén orgullosos de mí y tengan presente que gracias a ustedes y a sus grandes enseñanzas he logrado seguir adelante superando los obstáculos y concluir con una etapa importante en mi vida.

A mi Novia **Itzel Alejandra Ramírez**, gracias por estar presente en esta etapa importante en mi vida, por acompañarme y apoyarme incondicionalmente en las buenas y las malas, sé que el proceso fue difícil pero no imposible y que todo el esfuerzo y sacrificio no fueron en vano, de ti aprendí que hay que salir adelante siempre con nuestra mejor versión a pesar de las adversidades y siempre tener presente nuestro lema “prohibido rendirse”. Gracias por recorrer este camino de mi mano y no dejarme solo, por siempre alentarme a alcanzar mis metas, por comprenderme y siempre estar cuando más te necesite.

Eres la más hermosa casualidad que a mi vida llego. Te amo.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

Pág.

AGRADECIMIENTOS.....	IV
DEDICATORIA.....	VI
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO	VII
ÍNDICE DE CUADROS	IX
RESUMEN.....	X
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 El Zn en la nutrición de cultivos	3
2.2 Absorción de minerales en las plantas	3
2.3 Absorción de nanofertilizantes en las plantas	5
2.4 Impacto de nanofertilizantes en las plantas.....	12
2.5 Nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO).....	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1 Semillas de acelga	17
3.2 Materiales a base de zinc.....	17
3.3 Biosíntesis de nanopartículas de óxido de zinc	17
3.4 Biosíntesis de nanopartículas de óxido de zinc (BNPs ZnO).....	18
3.5 Preparación de soluciones/suspensiones con los fertilizantes a base de zinc	18
3.6 Condiciones dónde se cultivaron las plantas.....	18
3.7 Cosecha de las plantas y análisis elemental	19
3.8 Contenido de pigmentos de clorofila y carotenoides	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1 Parámetros agronómicos	21
4.2 Impacto de las fuentes de Zn en parámetros agronómicos.....	21
4.3 Concentración de pigmentos fotosintéticos	23
4.4 Clorofila A.....	23
4.5 Clorofila B.....	24
4.6 Clorofilas totales	24
4.7 Carotenoides.....	24

5. CONCLUSIONES.....	27
6. REFERENCIAS	28

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para los parámetros agronómicos de plantas sometidas a diferentes concentraciones y fuentes de Zn.....	21
Cuadro 2. Respuestas agronómicas y morfológicas de plantas de acelga cultivadas en suelo modificado con diferentes fuentes de Zn.....	22
Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para los parámetros fisiológicos de plantas sometidas a diferentes concentraciones y fuentes de Zn.	23
Cuadro 4. Cuadro 2. Concentración de pigmentos fotosintéticos en hojas de plantas de acelga cultivadas en suelo modificado con diferentes fuentes de Zn.	25

RESUMEN

El objetivo del trabajo de investigación fue comparar el efecto que tienen diferentes fuentes de zinc (Zn); sulfato de zinc ($ZnSO_4$), nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) y nanopartículas orgánicas de zinc sintetizadas con extractos de moringa (BNPsZnO) en parámetros agronómicos y fisiológicos de plantas de acelga. Los fertilizantes a base de Zn fueron utilizados para modificar suelo arcilloso, a concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500 mg de Zn/kg de suelo, donde se cultivaron plantas de acelga por 45 días. Durante el desarrollo del estudio, se contabilizó el peso de hoja (PHO), número de hojas (NHO), ancho de la hoja (AHO), largo de la hoja (LHO), longitud de raíz (LR), peso seco de raíz (PSR) y área foliar (AF). La cosecha se realizó 45 días después de la siembra, la acumulación de materia seca se utilizó para análisis elemental (datos no presentados) y acumulación de pigmentos fotosintéticos. Los resultados indican que todas las fuentes de Zn impactaron el crecimiento de las hojas y el desarrollo de la raíz, pero las mejores respuestas se observaron con NPsZnO y BNPsZnO. Además, se modificó la concentración de clorofilas, las mejores respuestas se identificaron con NPsZnO y BNPsZnO a 200 y 300 mg de Zn/kg de suelo.

Palabras clave: Nanofertilizantes, *Beta vulgaris*, respuestas fisiológicas, parámetros agronómicos, Zinc

1. INTRODUCCIÓN

El impacto de la exposición de nanofertilizantes a base de Zn en plantas terrestres, ha llamado la atención en los últimos tiempos (Pullagurala *et al.*, 2018). Lo anterior, debido a que la nanotecnología en la agricultura, ha mejorado los sistemas de producción de cultivos con el uso de nanopartículas metálicas para la nutrición de plantas (Faizan *et al.*, 2021). Este beneficio se debe principalmente a una mayor eficiencia en el uso de nutrientes por parte de las plantas, debido a su pequeño tamaño, mayor área de superficie y liberación gradual del ingrediente activo (Rawat *et al.*, 2021).

Sin embargo, se han reportado hallazgos sobre efectos perjudiciales de NPsZnO en el crecimiento de las plantas, y pocos estudios que han demostrado efectos beneficiosos (Tripathi *et al.*, 2017; Ruiz-Torres *et al.*, 2021). Por ejemplo, la aplicación de NPs ZnO a semillas de trigo en baja concentración (10m g/L) mejoró la absorción de agua, lo que resultó en una actividad mejorada de la enzima α -amilasa y el contenido de pigmentos fotosintéticos como la clorofila a, clorofila b y el contenido total de clorofila (Rai-Kalal y Jajoo, 2021). Por el contrario, se han documentado efectos tóxicos de las NPs ZnO en diferentes especies, en plantas de *Arabidopsis thaliana*, la aplicación de NPsZnO afectó la biosíntesis de clorofila y la eficiencia fotosintética al inhibir la expresión de genes asociados a la síntesis de clorofila (Wang *et al.*, 2016). Por lo tanto, es imperativo averiguar el impacto que tienen los nanofertilizantes a base de Zn en varios aspectos del crecimiento y desarrollo de las plantas.

El zinc (Zn) es uno de los micronutrientes esenciales y está involucrado en muchos procesos celulares, incluidos biosíntesis de auxinas, la fotosíntesis y la síntesis de proteínas (Khanm *et al.*, 2018), no obstante, la asimilación de este micronutriente de dentro de los tejidos de la planta depende la fuente de fertilización aplicada. En este estudio, se modificó suelo arcilloso con diferentes fuentes de Zn (ZnSO₄, NPs ZnO y BNPs ZnO) a concentraciones de 0, 100, 200, 300, 400 y 500 mg de Zn/kg de suelo para determinar su impacto en el crecimiento de la planta y acumulación de pigmentos fotosintéticos.

1.1 Hipótesis

H₀: El suelo modificado con ZnSO₄, NPs ZnO y BNPs ZnO a concentraciones de 0, 100, 200, 300, 400 y 500 mg de Zn/kg de suelo, tiene un impacto en parámetros agronómicos y fisiológicos (pigmentos fotosintéticos) en plantas de acelga (*Beta vulgaris*).

H₁: El suelo modificado con ZnSO₄, NPs ZnO y BNPs ZnO a concentraciones de 0, 100, 200, 300, 400 y 500 mg de Zn/kg de suelo, no afecta parámetros agronómicos y fisiológicos (pigmentos fotosintéticos) en plantas de acelga (*Beta vulgaris*).

1.2 Objetivo general

Determinar el impacto que tienen el suelo modificado con ZnSO₄, NPs ZnO y BNPs ZnO a concentraciones de 0, 100, 200, 300, 400 y 500 mg de Zn/kg de suelo, en parámetros agronómicos y fisiológicos (pigmentos fotosintéticos) en plantas de acelga (*Beta vulgaris*).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El Zn en la nutrición de cultivos

En la mayoría de los suelos, el contenido total de Zn supera con creces el requisito de cultivo y, sin embargo, la disponibilidad de este micronutriente es el factor limitante. El Zn está presente en los minerales primarios y secundarios y puede liberarse por la intemperie en pequeñas cantidades. Se adsorbe en forma de Zn^{++} , $ZnOH^+$ y $ZnCl^+$ a minerales de arcilla, carbonatos y materia orgánica. La adsorción puede ser no específica y en este caso la disponibilidad es alta, mientras que la adsorción específica provocada principalmente por los carbonatos es más fuerte y, por lo tanto, hace que el Zn esté menos disponible.

El Zn también puede estar ocluido por carbonatos y óxidos de Fe/Al y, por lo tanto, no está disponible para las raíces de las plantas. Una proporción importante de Zn en los suelos está unida a moléculas orgánicas y esta unión incluye principalmente la complejación de Zn debido a su afinidad con los ligandos de Nand. Además, algunos de estos compuestos están potencialmente disponibles para la planta ya que el Zn se equilibra con los iones Zn en la solución. La deficiencia de Zn se produce principalmente en suelos con pH alto, especialmente en suelos ricos en carbonatos (Cakmak et al., 1996). Tanaka y Yoshida (1970), al examinar las áreas de cultivo de arroz más importantes de Asia, encontraron que la deficiencia de Zn del arroz solo ocurre en suelos con pH alto y en particular en suelos calcáreos de pH alto. La movilidad del Zn en los suelos es importante en relación con la disponibilidad de Zn, ya que las concentraciones de Zn en la solución del suelo son muy bajas. Los resultados de Elgawhary (1970) mostraron que el 90.5% del Zn total requerido por las plantas se mueve hacia las raíces por difusión.

2.2 Absorción de minerales en las plantas

Hay dos vías paralelas de movimiento de solutos y agua a través de la corteza hacia los haces vasculares: una que pasa a través del apoplasta (paredes celulares y espacios intercelulares) y otra que pasa de una célula a otra en el simplasma a través de los plasmodesmos. En la mayoría

de las raíces, el movimiento apoplásmico hacia los haces vasculares está restringido por la banda de casparin en las paredes de las células endodérmicas (White, 2001). Esta banda se suberiza y se une a cada célula endodérmica (endodermis en etapa I). En las regiones basales de la raíz, las laminillas suberínicas cubren toda la superficie de las células endodérmicas (endodermis en estadio II). Esto evita que las células endodérmicas tomen solutos del apoplasma (Moore *et al.*, 2002). Las paredes secundarias de celulosa gruesa se depositan sobre las laminillas suberínicas, que se pueden lignificar (etapa Endodermis III). La naturaleza y el alcance de estas modificaciones de la pared celular están determinados por factores genéticos y ambientales.

En la mayoría de las angiospermas, otra barrera apoplásmica, es la exodermis que puede desarrollarse en paralelo con la endodermis (Ma y Peterson, 2003). La exodermis se desarrolla en las mismas tres etapas que la endodermis. La formación de una exodermis se encuentra, por ejemplo, en *Zea mays*, *Allium cepa* o *Helianthus annuus*, pero no en *Vicia faba* o *Pisum sativum* (Enstone y Peterson, 1992). Sin embargo, hay diferentes puntos de vista sobre la función de la exodermis como una barrera eficaz para el transporte de agua y solutos en el apoplasma de la corteza de la raíz. La vía en la exodermis, como lo sugieren Enstone y Peterson (1992), limitaría la entrada de solutos y agua a la raíz del suelo a las células rizodérmicas en zonas radicales.

Aunque las células rizodérmicas y en particular las células ciliadas de la raíz, desempeñan un papel clave en la adquisición de minerales (nutrimentos), especialmente potasio K y fósforo P (Gahoonia y Nielsen, 2004; Gahoonia *et al.*, 2006), la importancia relativa de las dos vías para el transporte de solutos a través de la corteza de la raíz es desconocida y dependerá de: (i) la concentración externa frente a la capacidad y afinidad del sistema de transporte para un determinado soluto en la membrana plasmática de las células de la raíz; (ii) la zona radicular considerada, dependiendo de las condiciones ambientales y la tasa de crecimiento de la raíz, la exodermis puede desarrollarse dentro de un centímetro del ápice de la raíz o permanecer sin desarrollarse (Ma y Peterson, 2003) y (iii) la conductividad hidráulica de la zona radicular considerada y la transpiración. La velocidad del rodaje para el agua, las estimaciones de la contribución de la vía apoplásmica al transporte radial a través de las raíces varían aproximadamente entre 10 y el 70% (Javot y Maurel, 2002).

La endodermis tampoco es una barrera perfecta para el movimiento apoplasmático del agua y los solutos de la corteza a los haces vasculares. Además de la presencia de células pasantes en algunas especies de plantas, esta barrera puede ser permeable en dos sitios a lo largo del eje de la raíz, al menos en el ápice de la raíz, donde la banda de Caspariana aún no está completamente desarrollada, el movimiento apoplasmático del agua y los solutos a los haces vasculares puede ocurrir. Sin embargo, el movimiento de algunos solutos, como los cationes polivalentes como el aluminio, a través del apoplasto del ápice de la raíz se puede restringir por el mucílago formado en la superficie externa de las células rizodérmicas. La vía apoplásmica a los haces vasculares también es posible en las zonas radiculares basales donde la continuidad estructural de la endodermis se ve interrumpida transitoriamente por la emergencia de las raíces laterales del periciclo (White, 2001).

Tanto los factores genéticos como los ambientales influyen en el movimiento del agua y los solutos a través de la vía apoplásmica a través de sus efectos en el desarrollo de la endodermis y la exodermis. La deposición acelerada de suberina y lignina restringe el movimiento apoplasmático de los cationes y otros solutos al xilema (White, 2001; Enstone *et al.*, 2002) y reduce la conductividad hidráulica (Boyer, 1985). La vía simplástica desempeña un papel clave en la entrega de la mayoría de los nutrientes al xilema, comenzando ya sea en la rizodermis y en los pelos de la raíz, en la exodermis o en la endodermis. El transporte radial en la vía simplástica requiere movimiento a través de plasmodesmos, que conectan las células de la raíz adyacente. Los plasmodesmos tienen una estructura compleja (Lucas y Lee, 2004). El tipo más simple, que se produce es en tejidos jóvenes y comprende un tubo de retículo endoplásmico apretado (ER) que atraviesa el poro del desmotúbulo.

2.3 Absorción de nanofertilizantes en las plantas

Actualmente, el tema de la absorción de las nanopartículas (NPs) a través de las raíces de las plantas aún es incierto. Una explicación importante es que la captación de las NPs y las micropartículas (MPs) por parte de las plantas se ve afectada por múltiples factores como el tamaño de las partículas, la funcionalización de la superficie, la morfología, las condiciones de exposición, el tipo de planta, la integridad de las raíces (daños o enfermedades) y los procesos

de la rizosfera. Enseguida, este documento presenta la información actual relacionada con las características de las NPs y MPs, las especies de plantas, las condiciones de exposición, los métodos analíticos y los principales resultados sobre la captación y translocación de NPs y MPs metálicas a través de la raíz.

Las paredes celulares de las plantas son una matriz compleja que contiene una red de microfibrillas de celulosa reticuladas con hemicelulosa y lignina e impregnadas por pectina (Serag *et al.*, 2011). Con estas estructuras características, las paredes celulares epidérmicas de la raíz restringen el paso de grandes agregados o aglomerados de NPs y MPs. En este caso, los aglomerados son conjuntos de partículas que podrían fracturarse por fuerzas considerables, mientras que los agregados son un patrón más definido de estructuras de prenucleación (Nichols *et al.*, 2002). Los poros de la pared celular se estima que tienen tamaños en un rango de 5 a 20 nm (Tepfer y Taylor, 1981); los grupos más pequeños o las partículas individuales podrían difundirse a través de los poros y entrar en el flujo apoplástico y/o simplástico. En algunos casos, la absorción extensa de NPs en las superficies de las raíces puede causar daños estructurales y comprometer la integridad de las células. Además, los nanotubos de carbono pueden perforar físicamente las paredes celulares de la raíz y la epidermis, alterando físicamente los tejidos de manera que puede facilitar la entrada de NPs en el citoplasma celular (Wild y Jones, 2009).

Una de las propiedades más importantes que impactan la absorción de las NPs y MPs a través de las raíces de las plantas, es el tamaño de las partículas. Algunos estudios han determinado que existe una selección de tamaño en la absorción de las NPs y MPs por parte de las plantas, pero existen resultados que exponen lo contrario. Por ejemplo, Sabo-Attwood *et al.* (2012) utilizaron la tecnología de μ -XRF y TEM, y observaron que las NPs Au de 3.5 nm fueron absorbidas por las raíces de plantas de tabaco, pero las NPs de 18 nm permanecieron aglomeradas en las superficies externas de la raíz. Por su parte, Taylor *et al.* (2014) al utilizar TEM encontraron que las NPs Ag de 108 nm no fueron absorbidas directamente por las raíces de *Arabidopsis thaliana*. Asimismo, Slomberg y Schoenfisch (2012) mencionaron que al utilizar TEM observaron que las NP SiO₂ de 200 nm podían ser absorbidas por las raíces de *Arabidopsis thaliana*, aunque se observaron menos partículas a medida que aumentaba el tamaño de partícula (14, 50, 200 nm).

Un experimento con el uso de TEM y μ -XRF evaluó la captación y el transporte dependientes del tamaño de las NPs TiO_2 en plantas de trigo (*Triticum aestivum*), los resultados de esta investigación evidenciaron que las NPs con diámetros de 36 nm se acumularon en las raíces y se distribuyeron por todo el tejido de la planta sin disolución o transformación, mientras que las NPs con diámetros en el rango de 36 a 140 nm se acumularon en la parénquima de la raíz de las plantas de trigo, lo cual no les permitió alcanzar las haces vasculares y por lo tanto no se translocaron a los brotes (Larue *et al.*, 2012). A pesar, de que se han realizado investigaciones relacionadas con la absorción de las NPs y MPs a través de las raíces, todavía es imposible estimar el tamaño idóneo para la asimilación de nutrientes por este órgano de la planta. Otro factor a considerar, es que los tamaños de las NPs y MPs en la rizosfera son completamente diferentes de los originales.

Los pelos radiculares cubiertos de mucílago están presentes en la zona de maduración de la raíz por encima de la punta de este órgano, y soportan la mayor parte de la transferencia de masa, es decir, la captación de agua y nutrientes en las raíces (Zhu *et al.*, 2012). Los pelos de la raíz emergen de células epidérmicas especializadas de la raíz original, que no están conectadas directamente al sistema vascular (Navarro *et al.*, 2012). La cutícula de los pelos de la raíz y la pared celular son más delgadas y más permeables que las de las células normales y sus paredes celulares no están reforzadas (Ma y Yamaji, 2006). En línea con esto, las comparaciones de diferentes especies de plantas mostraron una mayor acumulación de NPs Au en plantas de rábano (NPs de 6-10 nm) y helecho (NPs de 4 y 18 nm), lo cual fue atribuido en ambos casos a los pelos radicales de estas especies (Glenn *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2012).

Las raíces de las plantas tienen una superficie rugosa debido a la presencia de pelos radicales que pueden segregar mucílago o moléculas pequeñas como los ácidos orgánicos, y por lo tanto la superficie de la raíz generalmente muestra una carga negativa. Estas características hacen que las NPs y MPs con una carga superficial positiva sean más propensas a ser adsorbidas y se acumulen en la superficie de la raíz (Zhou *et al.*, 2011). Para que se produzca la captación y la translocación, estos materiales deben atravesar una serie de barreras radiológicas fisiológicas desde la superficie hasta los vasos del xilema, incluida la cutícula de la superficie de la raíz, la epidermis, la corteza, la endodermis, la banda caspariana y finalmente el transporte hacia arriba

hasta los brotes a través del xilema. El papel y la composición de la cutícula de la superficie de la raíz son similares a los de la cutícula de la superficie de la hoja. Aún se desconoce si los NPs pueden penetrar en la superficie de la raíz. Sin embargo, la cutícula está subdesarrollada en la superficie de los pelos radiculares y desarrolla puntas radiculares de las raíces principales y secundarias, por lo que las NPs pueden estar directamente en contacto con la epidermis en estas regiones (Schwab *et al.*, 2016). Al acercarse a la epidermis de la raíz, existen dos vías básicas para la absorción de las NPs en las raíces de las plantas. La mayoría de los estudios han propuesto la vía apoplástica, en la que los NPs y MPs primero penetran en los poros de la pared celular y luego se difunden en el espacio entre la pared celular y la membrana plasmática o pasan a través del espacio intercelular sin cruzar la membrana celular.

Para entender el transporte de NPs y MPs a través del plasmodesma, es importante darse cuenta de que los plasmodesmos no son huecos, la estructura básica de los plasmodesmos es un canal lineal o ramificado a través de la pared celular, revestido por la membrana celular. El canal contiene una hebra denominada desmotúbulo del retículo endoplasmático (ER) que conecta los ER de dos células. El espacio entre la membrana celular y el desmotúbulo en el que se transporta la mayoría de los solutos, se denomina manga citoplásmica (Roberts y Oparka, 2003). El desmotúbulo y la membrana celular están conectados por proteínas, que subdividen el cilindro citoplásmico en varios microcanales de 3 a 4 nm de diámetro (Lucas y Jung-Youn, 2004; Roberts y Oparka, 2003). Los plasmodesmos, debido al tamaño de los microcanales tienen un límite de exclusión de tamaño basal (SEL) en tejidos adultos de 3-4 nm, o 580–900 Da (Dietz y Herth, 2011; Roberts y Oparka, 2003).

Las moléculas más grandes que el SEL basal, incluyendo al ARN, proteínas, factores de transcripción y virus de plantas, experimentan cambios conformacionales en el canal plasmodésmico (Roberts y Oparka, 2003). Dada la incapacidad de la mayoría de los NPs y MPs para sufrir cambios conformacionales, esto significa que los plasmodesmas, en circunstancias normales, no transportan las NPs y MPs con tamaños mayores de 4 a 43 nm (Dietz y Herth, 2011). Sólo los solutos más pequeños que el SEL basal, como los azúcares, aminoácidos y iones se difunden directamente a través de los microcanales en el plasmodesma. Los plasmodesmos

en células maduras tienen un diámetro de 20 a 40 nm en la región del cuello del cilindro citoplasmático y, 50 a 60 nm de diámetro en el punto medio más ancho (Lin *et al.*, 2008).

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

Para las NPs, el valor es menor porque a diferencia de las macromoléculas la mayoría de las NPs no pueden sufrir cambios conformacionales (Dietz y Herth, 2011). Además, las NPs en sí pueden dilatar las SEL de los plasmodesmos, ya sea directamente o mediante cambios estructurales inducidos por NPs (Larue *et al.*, 2012). Por ejemplo, las NPs TiO₂ rompió los microfilamentos en las raíces del trigo, lo cual permitió el tránsito de NPs y MPs de una célula a otra con diámetros superiores a 420 nm (Larue *et al.*, 2012).

Además, Kouhi *et al.* (2015) demostraron la fitotoxicidad de las NPs ZnO, las micropartículas de ZnO y los iones Zn⁺⁺ en términos de inhibición de la longitud de la raíz de las plántulas de *Brassica napus*, en el rango de concentración de 50-500 µg/ml, en el siguiente orden; Zn⁺⁺> MPs ZnO> NPs ZnO, lo cual coincide con la revisión de literatura que se ha presentado anteriormente. Por lo tanto, se ha sugerido que la toxicidad de las NPs ZnO no solo puede atribuirse a su disolución en la superficie de la raíz, sino también dentro del tejido. Dependiendo de las especies de plantas y del medio experimental, los factores posibles que ayudan a promover la entrada de las NPs ZnO en las células de la raíz e inhibir el crecimiento de las plántulas puede ser la captación de ZnO (eficiencia externa) o la utilización de ZnO (eficiencia interna) en células (Lough y Lucas, 2006). Debido a la mayor proporción de área superficial en masa de las

NPs en comparación con las MPs, esa diferencia en masa contribuye a mayores reactividades. Las NPs pueden formar un complejo con transportadores de membrana o exudados de raíces antes de ser transportados a las plantas. Una vez que las NPs ingresan a las células de las plantas, pueden ser transportados de forma apoplástica o simplástica de una célula a otra a través de plasmodesmos.

Sin embargo, además de atravesar la pared celular, existen dos barreras por las cuales las NPs y MPs pueden ser transportados a través de la vía simplástica. Una es la penetración de las NPs por la membrana celular y la entrada en el citoplasma. El otro es el transporte de las NPs a las células adyacentes después de ingresar a la célula a través del plasmodesma. Se han propuesto varias hipótesis para el transporte transmembrana de NPs por células vegetales; a través de acuaporinas, canales iónicos interconectados, endocitosis e intubación de membrana rota. Sin embargo, los canales iónicos funcionan para iones específicos, y aunque las acuaporinas son de naturaleza no selectiva, los canales proteicos de las acuaporinas están generalmente por debajo de 1 nm de diámetro (Luu y Maurel, 2005).

De acuerdo con la literatura, la vía transmembrana de mayor factibilidad para las NPs es a través de la endocitosis. La endocitosis de células vegetales es poco conocida en comparación con la de los sistemas animales. Sin embargo, estudios recientes sobre la internalización de NPs utilizando células de plantas aisladas sugieren que las vías de endocitosis están involucradas. Por ejemplo, Onelli *et al.* (2008) utilizando CLSM observaron vías independientes de clatrina y dependientes de clatrina para la endocitosis de las NPs Au en protoplastos de tabaco.

La endocitosis es la invaginación de la membrana celular para la captación de materiales extracelulares, incluidas las NPs y MPs. Los mecanismos de endocitosis en fase fluida (FPE) difieren para NPs de tamaño comparable pero carga diferente (Etxeberria *et al.*, 2006). La vía endocítica más probable para las NPs cargadas positivamente es la endocitosis en fase fluida dependiente de clatrina mediada por receptores (CFPE) (Etxeberria *et al.*, 2006; Moscatelli *et al.*, 2007). El CFPE mediado por receptores es el mecanismo de endocitosis más común, ocurre a través de pequeñas vesículas recubiertas de clatrina de 70-120 nm de diámetro (S̃amaj, 2012) y por lo tanto, se limita a NPs más pequeños que este tamaño. Etxeberria *et al.* (2006) utilizando

CLMS observaron la captación endocítica en fase líquida de nanoesferas de poliestireno de 40 nm y puntos cuánticos (DQ) CdSe/ZnS de 20 nm por células sicómoras cultivadas y nanoesferas de poliestireno suministradas, mientras que nano puntos de CdSe/ZnS fueron secuestrados en estructuras vesiculares plasmáticas.

La endocitosis consiste en envolver la bicapa lipídica alrededor de sustancias con carga (en este caso serían las NPs) que se están internalizando. Posteriormente, se produce una reacción de fisión que aplasta una vesícula, un pequeño compartimento unido a la membrana que contiene la carga, lo que permite la entrada en las células. Existen diferentes vías de endocitosis y algunos estudios sugieren que las NPs pueden introducirse en las células a través de este mecanismo (Rejman *et al.*, 2004). El proceso de endocitosis implica vías dependientes de clatrina e independientes de clatrina (Miralles *et al.*, 2012). Las vías dependientes de la clatrina involucran la formación de una estructura plegada o envainada en la membrana plasmática que luego da como resultado vesículas de estructura recubierta de clatrina (Kam *et al.*, 2005). Las vías independientes de clatrina ocurren por dos vías: a) fagocitosis y c) endocitosis en fase líquida (Murphy *et al.*, 2005).

Los mecanismos de endocitosis pueden ser de fase fluida o mediados por el receptor. El mecanismo de la fase fluida se produce durante la formación de vesículas, donde la carga contenida en el medio de suspensión ubicado cerca de una vesícula en formación (pero no unida a la pared de la vesícula) queda capturada por la vesícula. Cuando la vesícula está completamente formada, las NPs quedan atrapadas dentro de la vesícula y, en consecuencia, se endocitan. A la inversa, en el mecanismo mediado por el receptor, la carga se une químicamente a un componente de la superficie celular, que a su vez se internaliza. El receptor puede ser una proteína de membrana específica de la carga, o simplemente puede ser cualquier entidad de lípidos, proteínas o carbohidratos a la cual se carga, se une y por ende sufrirá endocitosis (Pérez-de-Luque, 2017).

2.4 Impacto de nanofertilizantes en las plantas

Todas las nanopartículas (NPs) de óxido metálico influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas, generalmente mejoran o reducen la germinación de semillas, el crecimiento de brotes/raíces, la producción de biomasa y las actividades fisiológicas y bioquímicas. Algunas de las especies de plantas no han mostrado ningún cambio fisiológico, aunque se han observado variaciones significativas en la actividad de los sistemas enzimáticos y no enzimáticos para prevenir el daño oxidativo y mejorar el desarrollo de la planta. Sin embargo, el mecanismo de defensa de las plantas contra la toxicidad generada por la aplicación de NPs no ha sido esclarecido. Por otra parte, la absorción y translocación de las NPs metálicas en diferentes partes de la planta depende de su disponibilidad, concentración, solubilidad y tiempo de exposición. A continuación, se resume la respuesta de las plantas a diversos tipos de NPs metálicas para determinar si afectan la producción, la acumulación de biomasa y la calidad de los frutos.

Las NPs se utilizan con frecuencia en el crecimiento de plantas, cosméticos, administración de fármacos, análisis, alimentos, recubrimientos, pinturas, biorremediación, catálisis y ciencia de los materiales (Falcaro *et al.*, 2016). La absorción y la acumulación de NPs en plantas pueden aumentar la longitud de los brotes y disminuir la longitud de las raíces y su proliferación (Lin y Xing, 2007). La respuesta a la toxicidad depende de la concentración, el tamaño de las partículas y la forma de las NPs. Algunos estudios han demostrado que la exposición a NPs mejora el potencial de eliminación de radicales libres y las actividades enzimáticas antioxidantes y altera la expresión de microRNAs que regula diferentes procesos fisiológicos, morfológicos y metabólicos en plantas (Siddiqi y Husen, 2016).

Un estudio demostró que la toxicidad de los iones metálicos libres es mayor que la generada por NPs. Por ejemplo, las NPs de plata en medios acuosos son menos tóxicas para las plantas debido principalmente a la solubilidad del AgNO_3 y la mayor movilidad de los iones Ag^+ . La peroxidación lipídica es un parámetro importante que demuestra la integridad de la membrana celular. Se sabe que la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) daña la membrana celular a través de la peroxidación lipídica, lo que conduce a la fuga de iones y al rompimiento del metabolismo celular y también causan daño oxidativo en los aparatos fotosintéticos y en las biomoléculas (Miller, 2010). Frente al estrés oxidativo, las plantas protegen el sistema celular y

subcelular de los efectos citotóxicos de los radicales de oxígeno activo, con la activación de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), peroxidasa (POD) y ascorbato peroxidasa (APX) y antioxidantes no enzimáticos de bajo peso molecular (fenoles, flavonoides, taninos y carotenoides). Estos componentes minimizan el daño oxidativo durante la exposición a NPs de óxido metálico (Siddiqi y Husen, 2016).

Shaw *et al.* (2014) han demostrado que las NPs CuO redujeron el crecimiento de brotes y raíces de las plántulas de *Hordeum vulgare*, con el paso del tiempo de manera dependiente de la dosis. Sin embargo, la exposición de NPs CuO en plántulas de cebada mostró una alteración insignificante en la eficiencia del fotosistema II (PSII). También informaron que las nanopartículas de CuO indujeron la liberación de ROS, el daño a la membrana y la actividad enzimática en general.

El reemplazo de los fertilizantes convencionales por nanofertilizantes puede ser beneficioso si aumentan el número de frutos, semillas y la acumulación de biomasa, sin llegar a producir efectos tóxicos. Las plantas de soja cultivadas en condiciones hidropónicas acumularon iones de NPs metálicas como Zn, ZnO y CeO₂, las cuales afectaron la rizosfera del suelo y los microbios asociados con el metabolismo de las plantas. En este caso, las bacterias fijadoras de nitrógeno fueron las más afectadas por las NPs CeO₂, lo cual resultó en una disminución en el potencial para la fijación de nitrógeno y afectó el crecimiento de las plantas de soja. En consecuencia, el suelo contaminado con una gran cantidad de NPs metálicas puede afectar tanto a los microbios como al desarrollo de las plantas.

La biotransformación de las NPs puede aumentar la toxicidad o desintoxicar el sistema dentro de las plantas (Abramowicz, 1990). Dichas transformaciones están relacionadas con la reacción redox, la sulfuración, la fosforilación y la modificación molecular (Lowry *et al.*, 2012). La sulfuración de las NPs Ag disminuyó la toxicidad en *E. coli* debido a la menor solubilidad del Ag₂S, del mismo modo, la formación de AgCl a partir de AgNO₃ en presencia de iones cloruro también tiene el mismo efecto. Las plantas que son expuestas a NPs pueden absorberlas y translocarlas en diferentes tejidos. Se ha demostrado que la aplicación de NPs CuO a plantas de maíz, se redujeron a Cu₂O y Cu₂S (Wang *et al.*, 2012). La solubilidad de La₂O₃ y Yb₂O₃ se

mejoró por los ácidos orgánicos secretados por las raíces de pepino, por lo tanto, si hay sales de fosfato, se potencia la biotransformación de los óxidos a fosfatos.

En un estudio realizado por Zhao *et al.* (2012) en plantas de maíz sometidas NPs CeO₂, demostraron que el H₂O₂ se acumuló en las células del brote, el xilema y las células epidérmicas, lo que generó un incremento en la actividad de enzimas antioxidantes como POD, CAT y APX, el aumento en la actividad de las enzimas antioxidantes se debe a la reacción inducida contra las NPs CeO₂. El estudio anterior, no reportó ninguna reducción en el crecimiento de la raíz. Sin embargo, en otro estudio en plantas de calabaza, las NPs CeO₂ fueron translocadas a los brotes, las imágenes de TEM y SEM indican la deposición de las NPs en las superficies radiculares, lo que sugiere que el ácido fúlvico o la goma arábiga no afectaron el movimiento de las NPs, pero ayudaron a adherirlas a las raíces.

Priester *et al.* (2012) estudiaron el impacto de las NPs CeO₂ y ZnO en el crecimiento y rendimiento de la soja, los resultados indicaron que los dos tipos de NPs influyeron en la actividad de bacterias simbióticas y nitrificantes de la raíz, por ende se redujó el potencial de la raíz y la acumulación de la biomasa. Las NPs de ZnO y CeO₂ afectaron a las plantas en sustratos hidropónicos (López-Moreno et al., 2010) y a los microorganismos (Ge *et al.*, 2011), pero su efecto en el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos no se ha explorado completamente (Gutierrez-Boem y Thomas, 2001). En plantas de maíz cultivadas con NPs CeO₂ a concentraciones de 400 y 800 mg/kg durante 20 días, se registraron respuestas como la acumulación de H₂O₂, que incremento la actividad de enzimas antioxidantes, peroxidación de lípidos y muerte celular cada 5 días. En las etapas de crecimiento posteriores (20 días después) la producción de H₂O₂ se redujó, debido al crecimiento de la planta y a la actividad de las enzimas como POD y APX, cuya función es desintoxicar a la planta al convertir el H₂O₂ en agua y oxígeno.

Zhang *et al.* (2012) investigaron a la biotransformación de NPs CeO₂ en plantas de pepino, durante este proceso de biotransformación, ya sea la toxicidad de las NPs se potencia o se disminuye. Los factores del medio ambiente y los sistemas biológicos juntos alteran la toxicidad de las NPs en el sistema de las plantas. En el proceso de biotransformación, están involucrados

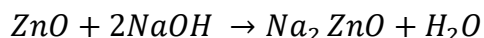
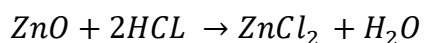
varios pasos incluyendo la sulfuración de la reacción redox, la fosforilación y la modificación molecular. Algunas NPs de metal o NPs de óxido de metal se oxidan o reducen dependiendo de los compuestos químicos presentes en ciertas partes de la planta. Por ejemplo, las NPs Ag se oxidaron en plantas de *Lolium multiflorum* (Yin *et al.*, 2011) mientras que las NPs CuO se redujeron a Cu₂O y Cu₂S en plantas de maíz (Wang *et al.*, 2012).

En un estudio realizado por Rico *et al.* (2015) acerca de la absorción y acumulación de NPs CeO₂ en diferentes partes de las plantas de cebada (*Hordeum vulgare* L.), los resultados indicaron que a una concentración de 500 mg/kg, se produjo un desarrollo rápido de los brotes, lo que resultó en un aumento del 331% de la biomasa, pero lo más sorprendente es que la cebada no generó granos. La acumulación de otros iones metálicos en las hojas y granos de cebada (por ejemplo, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn) está catalizada por las NPs CeO₂, quizás se deba a las biomoléculas coordinadas con estos metales lo que las hace disponibles como oligoelementos que también actúan como nutriente para la planta. Las nanopartículas de CeO₂ promovieron el crecimiento de las plantas en soja y tomate (Wang *et al.*, 2012). Por lo tanto, la toxicidad depende de la forma del elemento si están en forma reducida u oxidada.

2.5 Nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO)

Kopittke *et al.* (2011) analizaron plantas de judía expuesta a NPs Zn y encontraron que el 65-85% del zinc se coordinaba como un complejo de zinc-fitato. El ácido fítico está presente en todos los frijoles y es una fuente de almacenamiento de fósforo. Se sabe que los iones Zn⁺⁺ activan la enzima fitasa, pero puede estar unido al ácido fítico para dar fitato de Zn. El ácido fítico es altamente inestable y, por lo tanto, se estabiliza en forma de una sal metálica. Por lo tanto, los iones de Zn libres se unen al ácido fítico a través del oxígeno que da complejo de zinc-fitato.

El efecto y la toxicidad que pueden causar las NPs ZnO depende de la cantidad de Zn disuelto en la solución (Franklin *et al.*, 2007). Es cierto que solo una fracción del Zn disuelto está biodisponible y puede ser absorbida y translocada en las diferentes partes de las plantas; sin embargo, la solubilidad del óxido del Zn depende del pH, por qué es de naturaleza anfótera, y se disuelve tanto en el ácido como en medios alcalinos como se muestra a continuación.



Las NPs ZnO se difunden en las células vegetales si el tamaño es relativamente más pequeño que los poros de las células. La fitotoxicidad de las NPs ZnO ha sido investigada por Watson *et al.* (2015) tanto en suelos ácidos, como en suelos alcalinos. En los suelos ácidos, se observó una inhibición de la elongación en las raíces de trigo (*T. aestivum*), mientras que la fitotoxicidad se mitigó en el suelo alcalino, aunque la absorción de las NPs ZnO se duplicó cuando la concentración de Zn en el suelo era baja. El Zn soluble en el suelo ácido fue 200 veces más alto y las cantidades de Zn en los brotes fueron diez veces más altas que en los del suelo alcalinos. Bajo condiciones de estrés, la planta promueve el crecimiento de raíz como una alternativa al daño por las NPs ZnO/Zn⁺⁺. Las nanopartículas de ZnO promueven la producción de ROS en raíces expuestas (Nel *et al.*, 2006). La presencia de iones Zn⁺⁺ se debe a la presencia de sal de Zn en las NPs ZnO, debido a la conversión de NPs ZnO en iones de Zn⁺⁺. Por lo tanto, se propone que las respuestas de estrés y defensa de las plantas se deben a un efecto combinado de las NPs ZnO y los iones Zn⁺⁺.

Además, en un estudio con plantas de *Vigna unguiculata* en suelo modificado con NPs ZnO o Zn⁺⁺ no mostró diferencias en el crecimiento de las plantas, la acumulación del ion de Zn y el tratamiento con NPs ZnO (Wang *et al.*, 2013). Por otra parte, la exposición foliar con NPs ZnO a plantas de *Cyamopsis tetragonoloba* y *Solanum lycopersicum*, promovió respuestas positivas en cuanto a mayor acumulación de biomasa, clorofila y proteínas solubles en las hojas (Raliya *et al.*, 2015). Otros estudios indican, que las NPs ZnO reducen la germinación de las semillas y dañan los tejidos en plantas cultivadas en medios hidropónicos (Lin y Xing, 2008). Otro estudio informó que las NPs ZnO en 2000 mg/kg no afectó la longitud de la raíz, ni la producción de biomasa en plantas *Cucumis sativus* cultivada en un suelo de arena franca a pH 5.5. En conclusión, el efecto de las NPs en plantas depende de la solubilidad del ion Zn⁺⁺, la concentración y las condiciones del suelo (Kim *et al.*, 2012).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Semillas de acelga

Las semillas de acelga fueron proporcionadas por el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, Coahuila, México.

3.2 Materiales a base de zinc

Las NPsZnO se compraron en Nanomateriales de Investigación Inc. (Houston, TX, USA). La morfología y microestructura de las muestras se examinaron mediante microscopía electrónica de transmisión convencional y de alta resolución (TEM y HRTEM) y difracción de electrones de área seleccionada (SAED). Las micrografías TEM y HRTEM se procesaron por medio del software de transformación rápida de Fourier (Digital Micrograph 3.7.0, Gatan Software, Pleasanton, CA, USA). El ZnSO₄ (ACS reagent $\geq 99.0\%$ pureza) se adquirió de Sigma-Aldrich (San Luis, Mo, USA).

3.3 Biosíntesis de nanopartículas de óxido de zinc

3.3.1 Preparación de extractos

Flores y hojas secas de Moringa *Oleifera* fueron colectadas en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. La solución se preparó con 6 gr en polvo (flores y hojas), que se suspendió en 200 mL de agua desionizada y luego se calentaron a unos 50 °C durante 2 h bajo agitación magnética para extraer el máximo de compuestos bioactivos. La solución obtenida fue filtrada para eliminar los sólidos residuales.

3.4 Biosíntesis de nanopartículas de óxido de zinc (BNPs ZnO)

Para la síntesis se utilizó como precursor nitrato de Zn hexahidratado $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (99,99% de pureza). Para ello, se pesó 1.5 gr de esta sal, que fue disuelta en 50 mL de la solución obtenida previamente, enseguida la mezcla se calentó con agitación magnética a 70 °C durante 2 H. La precipitación de las mezclas se introdujo en una estufa de secado a 100 °C hasta que se secó completamente, el polvo resultante fue utilizado para su caracterización y composición morfológica (Ngom et al., 2020).

3.5 Preparación de soluciones/suspensiones con los fertilizantes a base de zinc

El $ZnSO_4$, NPs ZnO y BNPs ZnO se prepararon a concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500 mg/kg. Las soluciones/suspensiones se prepararon en agua desionizada DI y se homogenizaron con un sonicador Autoscience AS2060B (Instrumentación Científica, Bs, As) durante 30 min a 110 voltios-3 amperios y 50 a 60 Ghz. Al finalizar el tiempo de sonicación, las suspensiones de los compuestos a base de Zn se añadieron y mezclaron manualmente con suelo tipo arcilloso recolectado en las siguientes coordenadas 25°54'49" N y longitud 97°41'57" O, lugar donde se cultivan hortalizas y cereales básicos. Las concentraciones finales de Zn en el suelo fueron de 100, 200, 300, 400 y 500 mg de Zn/kg de suelo para cada fuente ($ZnSO_4$, NPs ZnO y BNPs ZnO).

3.6 Condiciones dónde se cultivaron las plantas

El experimento se estableció en un invernadero, con una temperatura media diaria de 25.4 °C y una humedad relativa del 73.3%. Las semillas de acelga se sembraron en el suelo modificado con las fuentes de Zn, que fue colocado en macetas de plástico con capacidad de 18 lts, se asignaron cinco repeticiones por tratamiento en un diseño completamente aleatorio, junto con el control (suelo sin compuestos a base de Zn), colocando cuatro semillas de acelga en cada maceta. El cultivo se desarrolló durante 45 días, y para los riegos se aplicaron 75 mL diarios de solución nutritiva (sin Zn), empleando la formulación comercial de macronutrientes (FertiDrip N11-P02-K42) en agua desionizada DI, con un pH 6.47 y conductividad eléctrica de 0.41 μS

cm⁻¹, en cantidades iguales para cada maceta, siguiendo la recomendación del fabricante (AGROformuladora Delta, Monterrey, NL, Mex).

3.7 Cosecha de las plantas y análisis elemental

Las plantas de acelga se cultivaron durante 45 días en los tratamientos señalados anteriormente. El peso de hoja (PHO), número de hojas (NHO), ancho de la hoja (AHO), largo de la hoja (LHO), longitud de raíz (LR), peso seco de raíz (PSR) y área foliar (AF) se registraron para cada planta. El área foliar total se midió con un medidor de área LI-3100C (LICOR Biosciences, Lincoln, NE). De la cantidad total de materia seca acumulada en cada planta, la mitad fue procesada en digestión ácida para llevar a cabo el análisis elemental (datos no presentados), y el resto fue congelado a -80 °C para análisis de pigmentos fotosintéticos.

3.8 Contenido de pigmentos de clorofila y carotenoides

La evaluación cuantitativa de clorofila-a (CHLa), clorofila-b (CHLb) y clorofila total (CHLt) se llevó a cabo por el método de Rajput y Patil (2017), mientras que los carotenoides se determinaron siguiendo lo establecido por Macalacham y Zalik (1963). Para ello, se tomó 1 g de material de hojas frescas y se homogeneizó con 10 mL de acetona al 80%, enseguida el extracto se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min. El sobrenadante se recuperó para ser analizado, y la absorbancia de la solución extraída se midió a 480, 510, 645 y 663 nm, a partir de estas lecturas, se determinaron las concentraciones de pigmento de clorofilas y carotenoides utilizando la siguiente fórmula/ecuación:

$$\begin{aligned} \text{Chlorophyll } - a \text{ mg g}^{-1} \text{ FW} &= \frac{12.7 (A_{663}) - 2.69 (A_{645}) \times V}{1000} \times W \\ \text{Chlorophyll } - b \text{ mg g}^{-1} \text{ FW} &= \frac{22.9 (A_{645}) - 4.68 (A_{663}) \times V}{1000} \times W \\ \text{Total chlorophyll mg g}^{-1} \text{ FW} &= \frac{20.2 (A_{645}) + 8.02 (A_{663}) \times V}{1000} \times W \\ \text{Carotenoid mg g}^{-1} \text{ FW} &= \frac{7.6 (A_{480}) - 1.49 (A_{510}) \times V}{1000} \times W \end{aligned}$$

Donde,

A = Absorbancia a longitudes de onda específicas

V = Volumen final de extracto de clorofila en acetona al 80%

W = Peso fresco de tejido extraído

Diseño experimental y análisis estadístico

El cultivo se estableció utilizando un diseño completamente aleatorio, la unidad experimental consistió en una maceta de plástico que contenían cuatro plantas de acelga. Los resultados se informaron como media \pm desviación estándar, las diferencias estadísticamente significativas entre las muestras se analizaron con un ANOVA y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico SPSS versión 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Parámetros agronómicos

En el Cuadro 1, se observan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para variables agronómicas como; peso de hoja (PHO), número de hojas (NHO), ancho de la hoja (AHO), largo de la hoja (LHO), longitud de raíz (LR), peso seco de raíz (PSR) y área foliar (AF), lo anterior debido a la aplicación de las diferentes fuentes de zinc ($ZnSO_4$, NPsZnO y BNPsZnO). En este estudio, queda como evidencia que la aplicación de zinc como micronutriente durante el crecimiento de la planta, influye directamente en el desarrollo morfológico de la planta. A continuación, en los resultados de la comparación de medias se presentan a detalle dichos efectos.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para los parámetros agronómicos de plantas sometidas a diferentes concentraciones y fuentes de Zn.

FV	GL	PHO (gr)	NHO (unidad)	AH O (cm)	LH O (cm)	LR (cm)	PSR (gr)	AF (cm ³)
Tratamientos	15	189.01 **	30.24 *	1.05	4.77	74.80 **	4.64 **	163947.59 **
Error	32	58.06	11.48	0.93	2.42	11.17	0.65	10365.77
CV (%)		8.78	19.07	8.32	7.64	11.94	15.00	6.55

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente; FV = Fuentes de variación; GL = Grados libertad; CV = Coeficiente de variación; PHO = Peso fresco de hoja; NHO = Numero de hojas; AHO = Ancho de hojas; LHO = Largo de hojas; LR = Longitud de raíz; PSR = Peso seco de raíz; AF = Área foliar.

4.2 Impacto de las fuentes de Zn en parámetros agronómicos

En la comparación de medias, se puede observar que todas las fuentes de Zn afectaron el crecimiento y número de hojas en las plantas (Cuadro 2). Sin embargo, las mejores respuestas se obtuvieron con las fuentes NPsZnO y BNPsZnO, cabe mencionar, que en todas las concentraciones (100 a 500 mg de Zn/kg de suelo) las variables PHO, NHO, AHO y LHO fueron

estadísticamente iguales. En el caso de ZnSO₄, únicamente supero al testigo en las respuestas de PHO y NHO a 200 mg de Zn/kg de suelo. Para el caso de AF, el ZnSO₄ no presentó diferencias en comparación con el testigo en ninguna concentración, mientras que las mejores respuestas para NPs ZnO se presentaron en las concentraciones de 100 a 200 mg de Zn/kg de suelo, y para BNPs ZnO a 300 mg de Zn/kg de suelo. En cuanto a LR y PSR, las mejores repuestas se presentaron en las concentraciones de 100 a 300 mg de Zn/kg de suelo con NPs ZnO y BNPs ZnO.

Cuadro 2. Respuestas agronómicas y morfológicas de plantas de acelga cultivadas en suelo modificado con diferentes fuentes de Zn.

Tratamientos	PHO (gr)	NHO (unidad)	AHO (cm)	LHO (cm)	LR (cm)	PSR (gr)	AF (cm ³)
Testigo	76.50 b	9.16 b	11.00 a	19.72 a	22.66 cd	4.99 abcd	1268.03 fe
ZnSO ₄ (100 mg/kg)	76.16 b	19.16 ab	12.11 a	20.31 a	30.80 abc	5.94 ab	1749.35 abc
ZnSO ₄ (200 mg/kg)	89.66 ab	17.66 ab	12.77 a	21.77 a	23.66 bcd	5.75 abc	1662.10 abcd
ZnSO ₄ (300 mg/kg)	76.16 b	16.00 ab	11.44 a	20.16 a	23.00 cd	2.71 d	1229.25 fe
ZnSO ₄ (400 mg/kg)	74.33 b	13.66 ab	11.55 a	18.61 a	19.00 d	3.46 cd	1181.81 f
ZnSO ₄ (500 mg/kg)	87.50 ab	14.16 ab	12.05 a	20.61 a	28.50 abcd	4.10 bcd	1240.97 fe
NPsZnO (100 mg/kg)	93.16 ab	21.50 a	12.16 a	20.87 a	29.13 abc	5.47 abc	1918.50 a
NPsZnO (200 mg/kg)	94.16 ab	18.63 ab	11.55 a	18.44 a	36.43 a	7.06 a	1857.51 a
NPsZnO (300 mg/kg)	87.33 ab	18.83 ab	11.94 a	21.66 a	29.33 abc	5.43 abc	1624.11 abcd
NPsZnO (400 mg/kg)	85.33 ab	20.50 a	10.61 a	19.88 a	31.83 abc	5.09 abcd	1446.80 cdef
NPsZnO (500 mg/kg)	96.16 ab	18.66 ab	12.11 a	22.11 a	24.50 bcd	4.30 bcd	1425.97 def
BNPsZnO (100 mg/kg)	93.00 ab	20.50 a	11.55 a	21.16 a	28.66 abcd	6.38 ab	1670.13 abcd
BNPsZnO (200 mg/kg)	93.00 ab	19.66 a	12.22 a	19.88 a	33.74 ab	6.49 ab	1647.99 abcd
BNPsZnO (300 mg/kg)	100.33 a	19.66 a	11.22 a	20.77 a	35.50 a	7.16 a	1781.33 ab
BNPsZnO (400 mg/kg)	91.33 ab	19.50 a	11.00 a	21.94 a	23.33 cd	6.20 ab	1660.19 abcd
BNPsZnO (500 mg/kg)	82.66 ab	17.00 ab	10.88 a	17.94 a	27.66 abcd	5.49 abc	1498.46 bcde

(Tukey, $\alpha = 0.05$ %). PHO = Peso fresco de hoja; NHO = Número de hojas; AHO = Ancho de hojas; LHO = Largo de hojas; LR = Longitud de raíz; PSR = Peso seco de raíz; AF = Área foliar; ZnSO₄ = Sulfato de zinc; NPsZnO = Nanopartículas de óxido de zinc; BNPsZnO = Nanopartículas orgánicas de óxido de zinc.

La diferencia en cuanto al efecto entre las diferentes fuentes de Zn, se debe a la disolución del ingrediente activo en el suelo, lo que determinará la utilización y absorción del mineral por la raíz y subsecuentemente su traslación por los haces vasculares. La menor respuesta en cuanto al desarrollo de las hojas y raíces de las plantas cultivadas con ZnSO₄, se debe principalmente a su alta solubilidad (aproximadamente 2650 $\mu\text{mol L}^{-1}$) y baja eficiencia dentro de los tejidos de

la planta (Latef *et al.*, 2016). En cambio, las mejores respuestas en el crecimiento de las plantas cultivadas con los fertilizantes a base de nano zinc, se debe a una mayor disponibilidad del ingrediente activo por un periodo de tiempo más prolongado, debido a que presentan disponibilidad lenta y gradual ($786 \mu\text{mol L}^{-1}$) del ingrediente activo (Pullagurala *et al.*, 2018).

4.3 Concentración de pigmentos fotosintéticos

En el Cuadro 3, se observan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para variables fisiológicas como: Clorofila A (CA), Clorofila B (CB), Clorofilas totales (CT) y Carotenoides (CAR) por la aplicación de diversas fuentes de Zn (ZnSO_4 , NPsZnO y BNPsZnO), lo anterior indica que influyeron significativamente en la acumulación de pigmentos fotosintéticos. Posiblemente esto está relacionado con las funciones que desarrolla este nutriente en la planta.

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza para los parámetros fisiológicos de plantas sometidas a diferentes concentraciones y fuentes de Zn.

FV	GL	CA ($\text{mg/g}^{-1}\text{mf}$)	CB ($\text{mg/g}^{-1}\text{mf}$)	CT ($\text{mg/g}^{-1}\text{mf}$)	CAR ($\text{mg/g}^{-1}\text{mf}$)
Tratamientos	15	0.009 **	0.002 **	0.01 **	0.001 **
Error	32	0.0009	0.0002	0.001	0.0001
CV (%)		8.57	11.72	8.67	5.96

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente; FV = Fuentes de variación; GL = Grados libertad; CV = Coeficiente de variación; CA = Clorofila A; CB = Clorofila B; CT = Clorofilas totales; CAR = Carotenoides.

4.4 Clorofila A

Con base en los resultados obtenidos de la comparación de medias (Cuadro 4), el tratamiento que obtuvo la mejor respuesta fue el NPsZnO a 200 mg/kg, siendo este estadísticamente diferente y superior al resto de los tratamientos, obteniendo una diferencia del 31.28% ante el testigo. Cabe destacar, que el comportamiento de las otras fuentes de Zn (ZnSO_4 y BNPsZnO) con la misma concentración demostró tener una concentración del 47.07% y 12.97% más bajos ante el mejor tratamiento.

4.5 Clorofila B

Los resultados obtenidos por la comparación de medias (Cuadro 4), indican que el tratamiento con la mejor respuesta fue NPsZnO a 300 mg/kg, siendo diferente y estadísticamente superior al resto, con una diferencia superior del 28.88% ante el testigo, y 83.67% y 9.09% superior a las demás fuentes de Zn (ZnSO₄ y BNPsZnO), aun con la misma concentración.

4.6 Clorofilas totales

La comparación de medias (Cuadro 4), indica que el tratamiento con mejor respuesta fue NPsZnO a 300 mg/kg, siendo este diferente y estadísticamente superior al resto, obteniendo un incremento del 29.07% ante el testigo, y 71.84% y 7.52% superior a las demás fuentes de Zn (ZnSO₄ y BNPsZnO) con la misma dosis.

4.7 Carotenoides

Los resultados de la comparación de medias (Cuadro 4), indican que el tratamiento con la mejor respuesta fue el NPsZnO a 300 mg/kg, siendo este diferente y estadísticamente superior al resto de los demás tratamientos, con un incremento del 29.25% ante el testigo, y una diferencia del 50.79% y 12.42% en comparación con las demás fuentes de Zn (ZnSO₄ y BNPsZnO) aún con la misma dosis.

Cuadro 4. Cuadro 2. Concentración de pigmentos fotosintéticos en hojas de plantas de acelga cultivadas en suelo modificado con diferentes fuentes de Zn.

Tratamientos	CA (mg/g ⁻¹ mf)	CB (mg/g ⁻¹ mf)	CT (mg/g ⁻¹ mf)	CAR (mg/g ⁻¹ mf)
Testigo	0.326 bcd	0.128 bcd	0.454 bcde	0.147 cde
ZnSO ₄ (100 mg/kg)	0.365 abc	0.151 abc	0.516 abc	0.166 abcd
ZnSO ₄ (200 mg/kg)	0.291 cde	0.104 cd	0.396 cde	0.139 de
ZnSO ₄ (300 mg/kg)	0.242 de	0.098 d	0.341 de	0.126 e
ZnSO ₄ (400 mg/kg)	0.227 e	0.098 d	0.325 e	0.126 e
ZnSO ₄ (500 mg/kg)	0.356 abc	0.154 abc	0.511 abc	0.161 abcd
NPsZnO (100 mg/kg)	0.410 ab	0.160 ab	0.570 ab	0.184 ab
NPsZnO (200 mg/kg)	0.428 a	0.151 abc	0.580 ab	0.171 abcd
NPsZnO (300 mg/kg)	0.405 ab	0.180 a	0.586 a	0.190 a
NPsZnO (400 mg/kg)	0.382 ab	0.170 ab	0.553 ab	0.163 abcd
NPsZnO (500 mg/kg)	0.327 bcd	0.167 ab	0.494 abc	0.154 bcde
BNPsZnO (100 mg/kg)	0.351 abc	0.157 ab	0.508 abc	0.176 abc
BNPsZnO (200 mg/kg)	0.379 abc	0.160 ab	0.540 ab	0.171 abcd
BNPsZnO (300 mg/kg)	0.379 abc	0.165 ab	0.545 ab	0.169 abcd
BNPsZnO (400 mg/kg)	0.372 abc	0.159 ab	0.532 ab	0.171 abcd
BNPsZnO (500 mg/kg)	0.327 bcd	0.135 abcd	0.462 abcd	0.151 bcde
Media	0.3605	0.158	0.5135	0.1645

(Tukey, $\alpha = 0.05$ %). CA = Clorofila A; CB = Clorofila B; CT = Clorofilas totales; CAR = Carotenoides; ZnSO₄ = Sulfato de zinc; NPsZnO = Nanopartículas de óxido de zinc; BNPsZnO = Nanopartículas orgánicas de óxido de zinc.

Las respuestas diferenciadas en la concentración de pigmentos fotosintéticos, se puede atribuir a la concentración de Zn en las hojas. Por ejemplo, se han reportado incrementos del 48.3% con la aplicación de NPs ZnO a 200 mg de Zn/kg de suelo, lo cual fue atribuido a una mayor acumulación de Zn en el tejido de las hojas (Ruiz-Torres *et al.*, 2021). Sin embargo, concentraciones superiores a 400 mg de Zn/kg de suelo tienen efectos perjudiciales, que se reflejan en disminuciones de la concentración de clorofilas (Smart *et al.*, 2017), debido a la alta concentración de iones de Zn dentro de la planta.

No obstante, otros estudios han reportado que el suministro de Zn al suelo con ZnSO₄ y NPs ZnO en altas concentraciones (400-800 mg/kg) ejerció efectos nocivos en la acumulación de clorofilas y carotenoides en plantas de arroz (*Oryza sativa*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y tomate (*Solanum lycopersicon*) (Smart *et al.*, 2017; García-Gómez *et al.*, 2017), debido a la toxicidad generada por la alta absorción de iones de Zn⁺⁺ dentro de la planta (Wang *et al.*, 2018).

El Zn es una metaloproteína que participa en la actividad de la enzima anhidrasa carbónica, ya que contiene un átomo de Zn que cataliza la hidratación del CO₂ que facilita la difusión del dióxido de carbono a los sitios de carboxilación en las plantas (Badger y Price, 1994; Pullagurala *et al.*, 2018), por ello, es de suma importancia que el Zn se encuentre en las concentraciones óptimas durante la fertilización de la planta. Por otro lado, las altas concentraciones de Zn dentro de los tejidos de la planta, pueden inducir toxicidad por la generación de radicales libres como H₂O₂ y O₂ hasta llegar a la peroxidación de lípidos (García-Gómez *et al.*, 2017; Pullagurala *et al.*, 2018).

5. CONCLUSIONES

En general, todas las fuentes de Zn impactaron el crecimiento de las hojas y el desarrollo de la raíz, pero las mejores respuestas se observaron con NPsZnO y BNPsZnO. Además, se observó que en todas las concentraciones aplicadas (100 a 500 mg de Zn/kg de suelo) estos fertilizantes no presentaron diferencias estadísticas.

Los fertilizantes de Zn (ZnSO_4 , NPsZnO y BNPsZnO) modificaron la concentración de clorofilas, las mejores respuestas se identificaron con NPs ZnO y BNPsZnO a 200 y 300 mg de Zn/kg de suelo. Pero el ZnSO_4 también generó buenas respuestas a 100 y 500 mg de Zn/kg de suelo.

6. REFERENCIAS

- Abramowicz, D.A. 1990. Aerobic and anaerobic biodegradation of PCBs: a review. *Crit Rev Biotechnol* 10:241-251.
- Boyer, J. 1985. Water transport. *Annu. Rev. Plant Physiol* 36:473-516.
- Dietz, K.J., and Herth, S. 2011. Plant nanotoxicology. *Trends Plant Sci* 16:582-9.
- Elgawhary, S.M., Lindsay, W.L. and Kemper, W.D. 1970. Effect of complexing agent and acids on the diffusion of zinc to a simulated root. *Soil Sci Soc Amer Proc* 34:211-214.
- Enstone, D.E. and Peterson, C.A. 1992. The apoplastic permeability of root apices. *Can. J. Bot.* 70:1502-1512.
- Etxeberria, E., Gonzalez, P. Baroja-Fernandez, E. and Romero, J.P. 2006. Fluid phase endocytic uptake of artificial nanospheres and fluorescent quantum dots by sycamore cultured cells. *Plant Signaling Behav* 1:196-200.
- Faizan, M., Faraz, A., Yusuf, M., Khan, S. T., and Hayat, S. 2018. Zinc oxide nanoparticle-mediated changes in photosynthetic efficiency and antioxidant system of tomato plants. *Photosynthetica*, 56(2), 678-686.
- Falcaro, P., Ricco, R. Yazdi, A. Imaz, I. Furukawa, S. MasPOCH, D. Ameloot, R. Evans, J.D. and Doonan, C.J. 2016. Application of metal and metal oxide nanoparticles MOFs. *Coord Chem Rev* 307:237-254.
- Franklin, N.M., Rogers, N.J. Apte, S.C. Batley, G.E. Gadd, G.E. and Casey, P.S. 2007. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environ Sci Technol* 41:8484-8490.
- Gahoonia, T.S. and Nielsen, N.E. 2004. Barley genotypes with long root hairs sustain high grain yields in low-P field. *Plant Soil* 262:55-62.
- Gahoonia, T.S., Ali, O. Sarker, A. Nielsen, N.E. and Rahman, M.M. 2006. Genetic variation in root traits and nutrient acquisition of lentil genotypes. *J. Plant Nutr* 29: 643-655.
- Ge, Y., Schimel, J.P. and Holden, P.A. 2011. Evidence for negative effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities. *Environ Sci Technol* 45:1659-1664.
- Glenn, J.B., White, S.A. and Klaine, S.J. 2012. Interactions of gold nanoparticles with freshwater aquatic macrophytes are size and species dependent. *Environ Toxicol Chem* 31:194-201.
- Gutierrez-Boem, F.H. and Thomas, G.W. 2001. Leaf area development in soybean as affected by phosphorus nutrition and water deficit. *J Plant Nutr* 24:1711-1729.
- Javot, H. and Maurel, C. 2002. The role of aquaporins in root water uptake. *Ann. Bot* 90:301-313.

- Kam, N.W.S., O'Connell, M. Wisdom, J.A. and Dai, H. 2005. Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction. *Proc Natl Acad Sci* 102(33):11600-11605.
- Khanm, H., Vaishnavi, B. A., and Shankar, A. G. 2018. Raise of nano-fertilizer era: effect of nano scale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of tomato (*Solanum lycopersicum*). *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 7(5), 1861-1871.
- Kim, S., Lee, S. and Lee, I. 2012. Alteration of phytotoxicity and oxidant stress potential by metal oxide nanoparticles in *Cucumis sativus*. *Water Air Soil Pollut* 223:2799-2806.
- Kopittke, P.M., Menzies, N.W. De Jonge, M.D. McKenna, B.A. Donner, E. Webb, R.I. Paterson, D.J. Howard, D.L. Ryan, C.G. Glover, C.J. Scheckel, K.G. and Lombi, E. 2011. In situ distribution and speciation of toxic copper, nickel and zinc in hydrated roots of cowpea. *J Plant Physiol* 156:663-673.
- Larue, C., Laurette, J. Herlin-Boime, N. Khodja, H. Fayard, B. Flank, A. Brisset M.F. and Carriere, M. 2012. Accumulation, translocation and impact of TiO₂ nanoparticles in wheat (*Triticum aestivum* spp.): Influence of diameter and crystal phase, *Sci Total Environ* 431:197-208.
- Lin, S.H., Kuo, H.F. Canivenc, G. Lin, C.S. Lepetit, M. Hsu, P.K. Tillard, P. Lin, H.L. Wang, Y.Y. Tsai, C.B. Gojon, A. and Tsay, Y.F. 2008. Mutation of the arabidopsis NRT1.5 nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport. *Plant Cell* 20:2514-2528.
- López-Moreno, M.L., De la Rosa, G. Hernández-Viezcas, J.A. Castillo-Michel, H. Botez, C.E. Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L. 2010. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environ Sci Technol* 44:7315-7320.
- Lough, T.J. and Lucas, W.J. 2006. Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annu Rev Plant Biol* 57:203-232.
- Lowry, G.V., Gregory, K.B. Apte, S.C. and Lead, J.R. 2012. Transformations of nanomaterials in the environment. *Environ Sci Technol* 46:6893-6899.
- Lucas, W.J. and Lee, J.Y. 2004. Plasmodesmata as a supracellular control network in plants. *Nat. Rev. Molec. Cell Biol* 5:712-726.
- Luu, D.T. and Maurel, C. 2005. Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. *Plant Cell Environ* 28:85-96.
- Ma, F. and Peterson, C.A. 2003. Recent insights into the development, structure and chemistry of the endodermis and exodermis. *Can. J. Bot* 81:405-421.
- Ma, J.F. and Yamaji, N. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends Plant Sci* 11:392-7.
- Miller, G., Suzuki, N. Ciftci-Yilmaz, S. and Mittler, R. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environ* 33:453-467.

- Miralles, P., Church, T.L. and Harris, A.T. 2012. Toxicity, uptake, and translocation of engineered nanoparticles in vascular plants. *Environ Sci Technol* 46(17):9224-9239.
- Moore, C.A., Bowen, H.C. Scrase-Field, S. Knight, M.R. and White, P.J. 2002. The deposition of suberin lamellae determines the magnitude of cytosolic Ca²⁺ elevations in root endodermal cells subjected to cooling. *Plant J.* 30:457-466.
- Moscatelli, A., Ciampolini, F. Rodighiero, S. Onelli, E. Cresti, M. Santo, N. 2007. Distinct endocytic pathways identified in tobacco pollen tubes using charged nanogold. *J Cell Sci* 120:3804-19.
- Murphy, A.S., Bandyopadhyay, A. Holstein, S.E. and Peer, W.A. 2005. Endocytotic cycling of PM proteins. *Annu Rev Plant Biol* 56:221-251.
- Navarro, D.A., Bisson, M.A. and Aga, D.S. 2012. Investigating uptake of water dispersible CdSe/ZnS quantum dot nanoparticles by *Arabidopsis thaliana* plants. *J Hazard Mater* 211:427-35.
- Nel, A., Xia, T. Madler, L. and Li, N. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311:622-627.
- Onelli, E., Prescianotto-Baschong, C. Caccianiga, M. and Moscatelli, A. 2008. Clathrin-dependent and independent endocytic pathways in tobacco protoplasts revealed by labelling with charged nanogold. *J Exp Bot* 59:3051-3068.
- Pérez-de-Luque, A. 2017. Interaction of nanomaterials with plants: what do we need for real applications in agriculture? *Frontiers in Environmental Science* 5:12.
- Priester, J.H., Gea, Y. Mielke, R.E. Horsta, A.M. Moritz, S.C. Espinosae, K. Gelbf, J. Walkerg, S.L. Nisbetb, R.M. Ani, Y.J. Schimelb, J.P. Palmere, R.G. Hernandez-Viezcas, J.A.
- Zhaoc, L. Gardea-Torresdey, J.L. and Holdena, P.A. 2012. Soybean susceptibility to manufactured nanomaterials with evidence for food quality and soil fertility interruption. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:14734-14735.
- Pullagurala, V. L. R., Adisa, I. O., Rawat, S., Kalagara, S., Hernandez-Viezcas, J. A., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L. 2018. ZnO nanoparticles increase photosynthetic pigments and decrease lipid peroxidation in soil grown cilantro (*Coriandrum sativum*). *Plant physiology and biochemistry*, 132, 120-127.
- Rai-Kalal, P., and Jajoo, A. 2021. Priming with zinc oxide nanoparticles improve germination and photosynthetic performance in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 160, 341-351.
- Raliya, R., Nair, R. Chavalmane, S. Wang, W.N. and Biswas, P. 2015. Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant. *Metallomics* 7:1584-1594.
- Rawat, S., Cota-Ruiz, K., Dou, H., Pullagurala, V. L., Zuverza-Mena, N., White, J. C., and Gardea-Torresdey, J. L. 2021. Soil-Weathered CuO Nanoparticles compromise foliar health and pigment production in spinach (*Spinacia oleracea*). *Environmental Science & Technology*, 55(20), 13504-13512.

- Rejman, J., Oberle, V. Zuhorn, I.S. and Hoekstra, D. 2004. Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis. *Biochem J* 377:159-169.
- Rico, C.M., Barrios, A.C. Tan, W. Rubenecia, R. Lee, S.C. Varela-Ramirez, A. Peralta-Video, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L. 2015. Physiological and biochemical response of soil-grown barley (*Hordeum vulgare* L.) to cerium oxide nanoparticles. *Environ Sci Pollut Res* 22:10551-10558.
- Roberts, A.G. and Oparka, K.J. 2003. Plasmodesmata and the control of symplastic transport. *Plant Cell Environ* 26:103-24.
- Ruiz-Torres, N., Flores-Naveda, A., Barriga-Castro, E. D., Camposeco-Montejo, N., Ramírez-Barrón, S., Borrego-Escalante, F., and García-López, J. I. 2021. Zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate impact physiological parameters and boosts lipid peroxidation in soil grown coriander plants (*Coriandrum sativum*). *Molecules*, 26(7), 1998.
- Sabo-Attwood, T., Unrine, J.M. Stone, J.W. Murphy, C. J. Ghoshroy, S. Blom, D. Bertsch P.M. and Newman, L.A. 2012. Uptake, distribution and toxicity of gold nanoparticles in tobacco (*Nicotiana xanthi*) seedlings. *Nanotoxicology* 6:353-360.
- Scholthof, H.B. 2005. Plant virus transport: motions of functional equivalence. *Trends Plant Sci* 10:376-82.
- Schwab, F., Zhai, G.S. Kern, M. Turner, A. Schnoor, J.L. and Wiesner, M.R. 2016. Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants-Critical review. *Nanotoxicology* 10:257-278.
- Serag, M.F., Kaji, N. Gaillard, C. Okamoto, Y. Terasaka, K. Jabasini. 2011. Trafficking and subcellular localization of multiwalled carbon nanotubes in plant cells. *ACS Nano* 5:493-9.
- Shaw, A.K., Ghosh, S. Kalaji, H.M. Bosa, K. Brestic, M. Zivcak, M. and Hossain, Z. 2014. Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of Syrian barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environ Exp Bot* 102:37-47.
- Slomberg, D.L. and Schoenfisch, M.H. 2012. Silica nanoparticle phytotoxicity to *Arabidopsis thaliana*. *Environ Sci Technol* 46:10247-10254.
- Tanaka, A. and Yoshida, S. 1970. Nutritional disorders of the rice plant in Asia. Intern. Rice Res Inst., Technical Bulletin 10.
- Taylor, A.F. Rylott, E.L. Anderson, C.W. and Bruce, N.C. 2014. Investigating the toxicity, uptake, nanoparticle formation and genetic response of plants to gold, *PLoS One* 9, e93793.
- Tripathi, D. K., Mishra, R. K., Singh, S., Singh, S., Vishwakarma, K., Sharma, S., and Chauhan, D. K. 2017. Nitric oxide ameliorates zinc oxide nanoparticles phytotoxicity in wheat seedlings: implication of the ascorbate–glutathione cycle. *Frontiers in plant science*, 8, 1.
- Wang, P., Menzies, N.W. Lombi, E. McKenna, B.A. Johannessen, B. Glover, C.J. Kappen, P. and Kopittke, P.M. 2013. Fate of ZnO nanoparticles in soils and cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environ Sci Technol* 47:13822-13830.

- Wang, Q., Ma, X.M. Zhang, W. Pei, H.C. Chen, Y.S. 2012. The impact of cerium oxide nanoparticles on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its implications for food safety. *Metallomics* 4:1105-1112.
- Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W., Hou, C., and Wang, S. 2016. Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in Arabidopsis. *Frontiers in plant science*, 6, 1243.
- Watson, J.L., Fang, T. Dimkpa, C.O. Britt, D.W. McLean, J.E. Jacobson, A. and Anderson, A.J. 2015. The phytotoxicity of ZnO nanoparticles on wheat varies with soil properties. *Biometals* 28:101-112.
- White, P.J. 2001. The pathways of calcium movement to the xylem. *J. Exp. Bot* 52: 891-899.
- Wild, E. and Jones, K.C. 2009. Novel method for the direct visualization of in vivo nanomaterials and chemical interactions in plants. *Environ Sci Technol* 43:5290-4.
- Yin, L., Cheng, Y. Espinasse, B. Colman, B.P. Auffan, M. Wiesner, M. Rose, J. Liu, J. and Bernhardt, E.S. 2011. More than the ions: the effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environ Sci Technol* 45:2360-2367.
- Zhao, L., Peng, B. Hernandez-Viezcas, J.A. Rico, C. Sun, Y. Peralta-Videa, J.R. Tang, X. Niu, G. Jin, L. Varela-Ramirez, A. Zhang, J.Y. and Gardea-Torresdey, J.L. 2012. Stress response and tolerance of *Zea mays* to CeO₂ nanoparticles: cross talk among H₂O₂, heat shock protein, and lipid peroxidation. *ACS Nano* 6:9615-9622.
- Zhou, D.M. Jin, S.Y. Li, L.Z. Wang, Y. and Weng, N.Y. 2011. Quantifying the adsorption and uptake of CuO nanoparticles by wheat root based on chemical extractions. *J Environ Sci* 23:1852-1857.
- Zhu, Z.J., Wang, H.H. Yan, B. Zheng, H. Jiang, Y. Miranda, O.R. 2012. Effect of surface charge on the uptake and distribution of gold nanoparticles in four plant species. *Environ Sci Technol* 46:12391-8.