

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Efecto de la Aplicación de Nanopartículas de Titanio, Hierro y Zinc, en la
Micromorfología de Raíz y Tallo de Girasol y Frijol en Invernadero

Por:

MARIELA HERNÁNDEZ FRUTIS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México
Junio 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Efecto de la Aplicación de Nanopartículas de Titanio, Hierro y Zinc, en la
Micromorfología de Raíz y Tallo de Girasol y Frijol en Invernadero

Por:

MARIELA HERNÁNDEZ FRUTIS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada



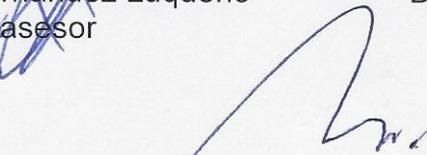
Dra. Francisca Ramírez Godina
Asesor Principal



Dr. Fabián Fernández Luqueño
Coasesor



Dr. Valentín Robledo Torres
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Junio 2015

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme vivir alado de personas maravillosas que me han aconsejado en todas las situaciones posibles que he tenido en mi vida, por los logros y fracasos.

A mis Padres; Justina Frutis González y Felipe Hernández Montiel, por darme la vida y apoyo incondicional en todas mis decisiones tomadas buenas o malas.

A mi Hermana, Alma Deli Hernández Frutis, que me apoyo en todo y nunca me dejo sola a pesar de todo y sin ella no estaría terminando esta nueva etapa.

A mi Hermano Oscar Hernández Frutis, por sus consejos y apoyo para comenzar mi carrera profesional que hoy culmino.

A mi Hermano Luis Felipe Hernández Frutis, que me cuida y protege donde quiera que este y me impulsa a seguir adelante a pesar de todo este mal.

A la UAAAN, por darme la oportunidad de adquirir los conocimientos que sus profesores brindan.

A la Dra. Francisca Ramírez Godina, por toda su confianza, apoyo, paciencia y tiempo brindado para la realización de este proyecto y poder ver su culminación.

Al Dr. Fabián Fernández Luqueño, por el tiempo, el apoyo y paciencia dedicados y sobre todo por la oportunidad brindada para realizar este proyecto.

Al Dr. Valentín Robledo Torres, por su apoyo y tiempo brindado para realizar la culminación de este proyecto.

A la TA. Norma Leticia Portos Gaona, por darnos sus conocimientos, experiencias, apoyo y la confianza para trabajar a su lado.

DEDICATORIAS

A mis Padres; Justina Frutis González y Felipe Hernández Montiel, que gracias a ellos estoy en este mundo y he logrado terminar una etapa de mi vida, por tener una vida como hasta ahora.

A mis Hermanos, que siempre están a mi lado pendientes de mí para cuidarme y apoyarme en todo, como hasta ahora.

A mis Sobrinos; Vanessa Michelle y Antonio Daniel Laguna Hernández, que son mi inspiración, mi fuerza y motivación para seguir adelante.

Al Departamento de Botánica, que mi inculcaron dedicación, responsabilidad y superación y sobre todo por todos los conocimientos y experiencias brindadas.

A mis Asesores, por el apoyo incondicional, la motivación los conocimientos brindados y sobretodo la confianza para sacar adelante este proyecto.

A mi Amigos, con los que he pasado años geniales a su lado llenos de risas y alegrías (Cecy, María “Brenda”, Diego, Luis, Cheli, Eri, Tavo, Segundo, Hector, Amalia y Froylan)

A Irvin Alexis Montejo Velasco, por haber formado parte de mi vida, soportarme, quererme, comprenderme y apoyarme sobre todo en los momentos más difíciles, por ser una persona muy especial para mí.

A todas las personas, que marcaron una huella en mi vida para convertirme lo que soy ahora.

RESUMEN

Las nanopartículas son materiales con dimensiones nanométricas utilizadas en diversos ámbitos como son la industria, medicina, cosméticos, entre otros productos comerciales, siendo liberadas al medio ambiente en diversas concentraciones y pudiéndose convertir en un problema ecotoxicológico poniendo en riesgo potencial a las plantas cultivadas (girasol y frijol). El objetivo de la investigación es determinar el efecto de las nanopartículas de titanio, hierro y zinc sobre la biomasa y micromorfología de tallo y raíz de girasol y frijol cultivados en invernadero. El estudio se realizó en el CINVESTAV Unidad Saltillo y en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Saltillo, Coahuila, durante 2013–2015. Realizando una siembra de semillas de girasol y frijol acondicionadas con nanopartículas (ZnO , TiO_2 , Fe_3O_4 , $FeOOH$ y Fe_2O_3) a 3 y 6 gr/l se realizaron 2 muestreos destructivos a 23-73 días en los cuales se midió biomasa (peso fresco y seco, longitud de raíz y de la parte aérea) y parámetros micromofológicos (área de vasos de xilema en raíz y tallo, área del haz vascular de raíz y grosor de epidermis de tallo). Los resultados en biomasa demuestran que la aplicación de nanopartículas que contienen hierro pueden inducir mayor desarrollo y modificaciones en la micromorfología de tejidos de conducción, las modificaciones micromorfológicas se expresaron hasta plantas adultas dependiendo de la especie y desarrollo de las plantas girasol y frijol. En el cultivo de Girasol las nanopartículas de hierro provocan una distribución de

los vasos de xilema en eustela (círculo), cuando lo normal en este cultivo debe ser en estela (cruz), sobre todo en planta adulta.

Palabras clave: Magnetita, Ferrihidrita, Hematita

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Paginas
RESUMEN.....	IV
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
1. Nanomateriales.....	4
1.1. Nanopartículas metálicas y derivados	4
1.1.1. Nanopartículas de Dióxido Titanio.....	5
1.1.2. Nanopartículas de Hierro	5
1.1.2.1. Ferrihidrita	6
1.1.2.2. Hematita.....	7
1.1.2.3. Magnetita.....	7
1.1.3. Nanopartículas de Óxido de Zinc	8
2. Nanotecnología aplicada a la agricultura	8
2.1. Agroquímicos nanoestructurados	9
3. Nanotoxicología en plantas	12
3.1. Vías de absorción y movilidad de las nanopartículas en las plantas.....	12
3.1.1. Absorción de las nanopartículas en plantas silvestres.....	14
3.1.2. Absorción de las nanopartículas en plantas cultivadas	15
3.2. Toxicidad de las nanopartículas en las plantas.....	16
3.2.1. Fitotoxicidad en biomasa de la parte aérea.....	18
3.2.2. Fitotoxicidad en biomasa de raíz	19
4. El hierro (Fe); elemento fundamental para los seres vivos	22
5. El Zinc (Zn); elemento fundamental para los seres vivos.....	23
6. El titanio (Ti); elemento para los seres vivos	24
MATERIALES Y MÉTODOS	26
Localidad de Evaluación	26
Material Biológico.....	26

Primera Etapa.....	27
Establecimiento de los cultivos en invernadero	27
Manejo de los cultivos en invernadero.....	28
Monitoreo del cultivo.....	28
Control de enfermedades	28
Aplicación de Nano partículas.....	29
Análisis de Biomasa.....	30
Variables evaluadas para biomasa	30
Peso fresco y peso seco de la parte aérea y raíz.....	31
Longitud (cm) de la parte aérea y la raíz.....	31
Segunda Etapa.....	31
Análisis Histológico de tallo y raíz	31
Toma de muestras	31
Fijación.....	32
Deshidratación.....	32
Inclusión en parafina.....	33
Cortes en el micrótopo	33
Montaje de tejidos en portaobjetos	34
Coloración	34
Análisis de imágenes.....	35
Análisis comparativo.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
Biomasa.....	37
Peso Fresco en Raíz de Girasol y Frijol	37
Peso Seco en Raíz de Girasol y Frijol	39
Longitud de Raíz en Girasol y Frijol	41
Peso Fresco en Parte Aérea en Girasol y Frijol	43
Peso Seco en Parte Aérea en Girasol y Frijol	45
Longitud de Parte Aérea de Girasol y Frijol	47
Micromorfología.....	50
Área de vasos de xilema en raíz de girasol y frijol.....	50
Área de vasos de xilema de tallo en girasol y frijol.....	54
Área del haz vascular en raíz de girasol y frijol.....	56

Grosor de epidermis del tallo en girasol y frijol.....	59
Análisis de imágenes de girasol a 23 días.....	62
Análisis de imágenes de girasol a 73 días.....	63
Análisis de imágenes de frijol a 23 y 73 días.....	64
CONCLUSIONES.....	65
LITERATURA CITADA.....	66
ANEXOS.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras		Paginas
1	Vías de asociación de nanopartículas, la absorción y translocación en las plantas. Fuente; (Dietz y Herth, 2011).	14
2	Distribución de las nanopartículas de tres clases de tamaños diferentes en brotes a nivel de órganos, tejidos y células. Fuente; (Dietz y Herth, 2011).	16
3	Categorización de los mecanismos de toxicidad de nanopartículas dependientes. Fuente; (Dietz y Herth, 2011).	18
4	Entrada de nanopartículas por las raíces. Las nanopartículas en un entorno natural son absorbidas por las raíces primarias (A2) o raíces laterales (A1 y luego B). Entonces Estas nanopartículas son transportados desde la raíz (C) a través del vástago (D e I) a la hoja (E, F, G, H). Las nanopartículas también pueden ser adsorbidas sobre la superficie de las raíces. (Xingmao et al., 2010)	21
5	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso fresco de raíz en girasol <i>Heliantus annuus L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo.	37
6	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso fresco de raíz en frijol <i>Phaseolus vulgaris L.</i> a 23 y 73 días de germinación.	38
7	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso seco de raíz en girasol <i>Heliantus annuus L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo	40
8	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso seco de raíz en frijol, <i>Phaseolus vulgaris L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo.	40
9	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre la longitud de raíz en girasol, <i>Heliantus annuus L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo.	42
10	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre la longitud de raíz en frijol, <i>Phaseolus vulgaris L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo.	42
11	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso fresco de la parte aérea en girasol, <i>Heliantus annuus L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo	44
12	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso fresco de la parte aérea en frijol <i>Phaseolus vulgaris L.</i> a 23 y 73 días de germinación	44
13	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso seco en parte aérea de girasol <i>Heliantus annuus L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo.	45

14	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso seco en parte aérea de frijol, <i>Phaseolus vulgaris L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo.	46
15	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre la longitud en parte aérea de girasol, <i>Heliantus annuus L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo.	48
16	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre la longitud en parte aérea de frijol, <i>Phaseolus vulgaris L.</i> a 23 y 73 días de desarrollo.	49
17	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área de vasos de xilema en la raíz de girasol, <i>Heliantus annuus L</i> de plantas a 23 y 73 días de emergencia. 1) Control 0g. 2) TiO ₂ 3g/l. 3) TiO ₂ 6g/l. 4) FeOOH 3g/l. 5) FeOOH 6g/l. 6) Fe ₂ O ₃ 3g/l. 7) Fe ₂ O ₃ 6g/l. 8) Fe ₃ O ₄ 3g/l. 9) Fe ₃ O ₄ 6g/l. 10) ZnO 3g/l. 11) ZnO 6g/l	51
18	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área de vasos de xilema en la raíz de frijol, <i>Phaseolus vulgaris L</i> de plantas a 23 y 73 días de emergencia.	52
19	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área de vasos de xilema en la parte aérea de girasol, <i>Heliantus annuus L</i> de plantas a 23 y 73 días de emergencia. 1) Control 0g. 2) TiO ₂ 3g/l. 3) TiO ₂ 6g/l. 4) FeOOH 3g/l. 5) FeOOH 6g/l. 6) Fe ₂ O ₃ 3g/l. 7) Fe ₂ O ₃ 6g/l. 8) Fe ₃ O ₄ 3g/l. 9) Fe ₃ O ₄ 6g/l. 10) ZnO 3g/l. 11) ZnO 6g/l	54
20	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área de vasos de xilema en la parte aérea de frijol, <i>Phaseolus vulgaris L</i> de plantas a 23 y 73 días de emergencia.	55
21	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el haz vascular la raíz de girasol, <i>Heliantus annuus L</i> de plantas a 23 y 73 días de emergencia. 1) Control 0g. 2) TiO ₂ 3g/l. 3) TiO ₂ 6g/l. 4) FeOOH 3g/l. 5) FeOOH 6g/l. 6) Fe ₂ O ₃ 3g/l. 7) Fe ₂ O ₃ 6g/l. 8) Fe ₃ O ₄ 3g/l. 9) Fe ₃ O ₄ 6g/l. 10) ZnO 3g/l. 11) ZnO 6g/l.	57
22	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área del haz vascular de raíz de frijol, <i>Phaseolus vulgaris L</i> de plantas a 23 y 73 días de emergencia.	58
23	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en grosor de epidermis en tallo de girasol, <i>Heliantus annuus L</i> de plantas a 23 y 73 días de emergencia. 1) Control 0g. 2) TiO ₂ 3g/l. 3) TiO ₂ 6g/l. 4) FeOOH 3g/l. 5) FeOOH 6g/l. 6) Fe ₂ O ₃ 3g/l. 7) Fe ₂ O ₃ 6g/l. 8) Fe ₃ O ₄ 3g/l. 9) Fe ₃ O ₄ 6g/l. 10) ZnO 3g/l. 11) ZnO 6g/l	60
24	Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en grosor de epidermis en tallo de frijol, <i>Phaseolus vulgaris L</i> de plantas a 23 y 73 días de emergencia.	61

- 25 Cortes longitudinales de las partes aéreas, raíz a 10X y tallo a 5X de Girasol a 73 días de germinación. a) Control Raíz. b) Dióxido de Titanio 3 g/l Raíz. c) Dióxido de Titanio 6 g/l Raíz. d) Ferrihidrita 3 g/l Raíz. e) Ferrihidrita 6 g/l Raíz. f) Hematita 3 g/l Raíz. g) Hematita 6 g/l Raíz. h) Magnetita 3 g/l Raíz. i) Magnetita 6 g/l Raíz. j) Óxido de Zinc 3g/l Raíz. k) Óxido de Zinc 6 g/l Raíz 10X. l). Control Tallo 5X. m) Dióxido de Titanio 3 g/l Tallo. n) Dióxido de Titanio 6 g/l Tallo. o) Ferrihidrita 3 g/l Tallo. p) Ferrihidrita 6 g/l Tallo. q) Hematita 3 g/l Tallo. r) Hematita 6 g/l tallo. s) Magnetita 3 g/l Tallo. t) Magnetita 6 g/l Tallo. u) Óxido de Zinc 3 g/l Tallo. v) Óxido de Zinc 6 g/l Tallo. 62
- 26 Cortes longitudinales de las partes aéreas, raíz a 10X y tallo a 5X de Girasol a 73 días de germinación. a) Control Raíz. b) Dióxido de Titanio 3 g/l Raíz. c) Dióxido de Titanio 6 g/l Raíz. d) Ferrihidrita 3 g/l Raíz. e) Ferrihidrita 6 g/l Raíz. f) Hematita 3 g/l Raíz. g) Hematita 6 g/l Raíz. h) Magnetita 3 g/l Raíz. i) Magnetita 6 g/l Raíz. j) Óxido de Zinc 3g/l Raíz. k) Óxido de Zinc 6 g/l Raíz 10X. l). Control Tallo 5X. m) Dióxido de Titanio 3 g/l Tallo. n) Dióxido de Titanio 6 g/l Tallo. o) Ferrihidrita 3 g/l Tallo. p) Ferrihidrita 6 g/l Tallo. q) Hematita 3 g/l Tallo. r) Hematita 6 g/l tallo. s) Magnetita 3 g/l Tallo. t) Magnetita 6 g/l Tallo. u) Óxido de Zinc 3 g/l Tallo. v) Óxido de Zinc 6 g/l Tallo. 63
- 27 Cortes longitudinales de las partes aéreas y raíz de Girasol a 23 días de desarrollo. a) Control Raíz. b) Dióxido de Titanio 3 g/l Raíz. c) Dióxido de Titanio 6 g/l Raíz. d) Óxido de Zinc 3 g/l Raíz. e) Control Tallo. f) Dióxido de Titanio 3 g/l Tallo. g) Dióxido de Titanio 6 g/l Tallo. h) Óxido de Zinc 3 g/l Tallo. Cortes longitudinales del tallo y la raíz a 10x de Girasol a 73 días de germinación. i) Control Raíz. j) Dióxido de Titanio 3 g/l Raíz. k) Dióxido de Titanio 6 g/l Raíz. l) Óxido de Zinc 3 g/l Raíz. m) Óxido de Zinc 6 g/l Raíz. n) Control Tallo. o) Dióxido de Titanio 3 g/l Tallo 2.5X. p) Dióxido de Titanio 6 g/l Tallo. q) Óxido de Zinc 3 g/l Tallo. r) Óxido de Zinc 6 g/l Tallo. 64

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Paginas
1	Nanoagroquímicos en desarrollo	11
2	Aplicación de cinco Nanopartículas en dos concentraciones a plantas de girasol	29
3	Aplicación de cinco Nanopartículas en dos concentraciones a plantas de frijol	30

INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas son materiales con dimensiones nanométricas de entre 1 y 100 nm (Palacios, 2011) y son utilizadas en la actualidad en diversos ámbitos como la industria, medicina, cosméticos, entre otros productos comerciales, siendo liberadas potencialmente en diversas concentraciones al medio ambiente (Weiss y Diabaté, 2011) teniendo efectos y propiedades diferentes a la de los materiales en tamaños normales (IRSLL, 2011) y en pocos años se puede convertir en un problema ecotoxicológico (Weiss y Diabaté, 2011) que pueden ocasionar riesgos para la salud del hombre y de otras especies (IRSLL, 2011).

Existen progresos en la comprensión de la nanotoxicología en diversos estudios de poblaciones microbianas, algas, modelos animales o líneas de células de mamíferos (Navarro *et al.*, 2008) pero en el caso de especies de plantas superiores se tiene una limitada información (Gardea-Torresdey *et al.*, 2003) siendo estas las principales a exposiciones de nanopartículas naturales o antropogénicas como: lixiviación, remediación del medio ambiente con nano cero valente hierro para la eliminación de tricloroetileno entre otros más. (Zhang, 2003).

En estudios recientes se midió el crecimiento de las plántulas de *Phaseolus radiatus* y *Sorghum bicolor* (Lee *et al.*, 2012) reportando toxicidad mediante el recubierto de nanopartículas de plata teniendo una toxicidad más

pronunciada cuando medio era de agar que en el suelo. Mientras Cifuentes *et al* (2011) demostraron que con nanopartículas Titanio, Hierro y Zinc recubiertas de carbono pueden penetrar fácilmente a la raíz de cuatro especies de plantas cultivadas (guisante, girasol, tomate y trigo).

Las nanopartículas (Titanio, Hierro y Zinc) son liberadas al ambiente de forma natural o antropogénica las cuales supone un riesgo potencial en plantas cultivadas (girasol y frijol) estos son adsorbidos a las superficies de las plantas, y trasladados dentro del cuerpo, persistiendo asociados y entrado en la cadena alimentaria humana.

Siendo el girasol en escasa producción de semilla en el mundo y México importa casi la totalidad de lo que consume de esta oleaginosa, siendo un importador neto del producto (Financiera Rural, 2010) Mientras el frijol en México, es la guarnición más utilizada para acompañar diferentes platillos. Es además una importante fuente de proteínas, que se cultiva en casi todo el territorio nacional (SIAP-SAGARPA, 2013).

En México la investigación científica sobre la absorción y la acumulación de Nanopartículas en plantas no se tiene suficientes evaluaciones y se encuentra en una etapa rudimentaria por ello el presente estudio tiene el propósito de evaluar el efecto de las nanopartículas de titanio, hierro y zinc sobre la biomasa y micromorfología de tallo y raíz de girasol y frijol cultivados en invernadero.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto de las nanopartículas de titanio, hierro y zinc sobre la biomasa y micromorfología de tallo y raíz de girasol y frijol cultivados en invernadero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Evaluar la producción de biomasa en los cultivos de frijol y girasol para ver si tienen algún efecto la aplicación de nanopartículas en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Analizar el efecto de las nanopartículas en dos cultivos de importancia económica como el girasol y el frijol

HIPÓTESIS

Las plantas cultivadas responden a la aplicación de altas concentraciones de nanopartículas y modifican su morfología celular y pueden afectar su crecimiento y desarrollo.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. Nanomateriales

Los nanomateriales son materiales con propiedades morfológicas más pequeñas que un micrómetro en al menos una dimensión. De tamaños de 1 a 100 nm, una definición lógica situaría la nanoescala entre la microescala (1 micrómetro) y la escala atómica/molecular (alrededor de 0.2 nanómetros) (Gutiérrez, 2005; Diaz del Castillo, 2012). Muchas de las propiedades de los materiales dependen de cómo se comporten los electrones que se mueven en su seno o de cómo estén ordenados los átomos en la materia (Diaz del Castillo, 2012).

Según Fages (2012) los nanomateriales se pueden clasificar conforme a su naturaleza química, en cuatro grandes familias:

- Nanomateriales derivados del silicio: nanoarcillas, nanoesferas de sílice, nanoesferas de silicio y nanocompuestos tipo POSS.
- Nanomateriales derivados del carbono: fullerenos, nanotubos y nanofibras de carbono.
- Nanopartículas metálicas y derivados de éstas: plata, oro, cobre, titanio, zinc, dióxido de titanio, óxido de zinc, óxido de cerio, fierro, etc.
- Nanopartículas poliméricas: dendrímeros.

1.1. Nanopartículas metálicas y derivados

Las nanopartículas metálicas poseen propiedades con aplicación en diversas áreas tecnológicas y desde la antigüedad se tiene conocimiento de las

estas siendo Faraday en 1857 el primero en realizar un estudio sistemático, basado en la síntesis y propiedades de suspensiones coloidales de oro (Gutiérrez, 2005) y así lanzando en el área de la nanotecnología a las nanopartículas metálicas a diversos ámbitos de estudios, teniendo en las últimas décadas un éxito, esto gracias a las propiedades que muestran como son magnéticas, eléctricas y catalíticas (Roldán *et al.*, 2000) pero también se debe tener en cuenta que estas propiedades pueden cambiar de manera impredecible y que tienden a interactuar de diferentes maneras ya sea libres o agrupados esto debido a las fuerzas de interacción atractiva o repulsiva entre ellas (IRSLL, 2011).

1.1.1. Nanopartículas de Dióxido Titanio

El dióxido de titanio (TiO₂), es un semiconductor sensible a la luz que absorbe radiación electromagnética, principalmente en la región UV, siendo un material químicamente estable y muy económico teniendo la posibilidad de aplicarlo en diversas áreas (Cardenas, 2012) y hasta el momento es más utilizado como fotocatalizador para degradar moléculas orgánicas durante el periodo de purificación del agua, además de su utilización en la industria de la cerámica y cosmética (Vargas *et al.*, 2011) teniendo en cuenta que aproximadamente la mitad de los estudios acerca de TiO₂ resultan efectos toxicológicos (Dietz y Herth, 2011)

1.1.2. Nanopartículas de Hierro

Las nanopartículas de óxido de hierro presentan una versatilidad ya que su propiedad magnética ofrece potencial para su uso en la remediación de

suelos produciéndolas en diversos tamaños en las cuales la propiedad magnética depende de la calidad de la estructura cristalina y su composición química en la cual es una de las más usadas, la magnetita (Fe_2O_3) es utilizada como inductor de calor y al llegar a la planta estas entran a la membrana celular, se internalizan en el citoplasma de la célula y mediante la aplicación de campos magnéticos las nanopartículas de hierro transforman la radiación magnética en calor local causando que la temperatura celular llegue a los 42°C – 43°C conduciendo a la muerte celular (Hipertarmia) (Trujillo, 2013).

1.1.2.1. Ferrihidrita

La Ferrihidrita ($\text{Fe}^{+3}+\text{O}(\text{OH})$) es un nanomaterial de óxido férrico hidratado común en ambientes geoquímicos acuosos. Sus pequeños tamaños de partícula (1.5-5 nm) exponen una gran área superficial específica en la interfaz mineral/agua, y esto puede tener una influencia considerable en el transporte y destino de una variedad de elementos vestigiales y mayores, a través de diversos procesos de absorción. En particular, los aniones de arseniato muestran una gran afinidad por las superficies de óxidos de Fe, incluyendo a la ferrihidrita, y su destino en ambientes contaminados está casi invariablemente asociado a éstos. Las nanopartículas extremadamente pequeñas de ferrihidrita, que muestran un alto grado de agregación cuando se secan, impiden la determinación experimental de parámetros superficiales importantes para la descripción termodinámica de su comportamiento de adsorción, tales como el área superficial específica disponible en suspensión (Villalobos y Antelo, 2011).

1.1.2.2. Hematita

La Hematita (Fe_2O_3) es el principal mineral de hierro, soluble en HCl al 15% y por su alta densidad, de 4.9 a 5.3 g/cm^3 , se emplea en fluidos de perforación como un material densificante y para controlar las presiones de la formación sin modificar otras propiedades del lodo. Puede usarse en todos los tipos de fluidos de perforación, pero su aplicación más frecuente es en lodos base aceite de alta densidad y bajo contenido de sólidos. Se emplea también como pigmento y abrasivo. Se produce un óxido de hierro sintético con un tamaño de partícula específico que se utiliza como secuestrante de ácido sulfhídrico. Estos óxidos presentan gran utilidad desde el punto de vista tecnológico en aplicaciones como pigmentos en diversos materiales y por sus propiedades magnéticas; además son importantes en áreas diversas como biofísica, medicina, ciencia de los suelos y astrofísica (Mazo-Zuluaga *et al.*, 2001).

1.1.2.3. Magnetita

La Magnetita (Fe_3O_4) por su ventaja de magnetismo es utilizado para aplicar una fuerza magnética sobre ferrofluidos, junto con agentes terapéuticos para aplicaciones médicas y biológicas, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer (Alexiou *et al.*, 2006) y en la hipertermia en el transporte selectivo de fármacos encontrándose en diversos campos como es en la biomedicina (Garde, 2007).

La Magnetita ha sido usada en aplicaciones biomédicas como un trazador para la reparación de tejidos, para el mejoramiento de las propiedades

de fármacos, detección temprana de algunos carcinomas, entre otros. Las investigaciones de la magnetita nanoparticulada como componente principal de sensores y su interacción con polímeros de impresión molecular para la detección de colorantes es interesante desde el punto de vista ambiental (Picasso *et al.*, 2012).

1.1.3. Nanopartículas de Óxido de Zinc

El Óxido de Zinc (ZnO) es un metal de transición y un semimetal que puede reaccionar con ácidos y bases generando agua y sal. Es un material semiconductor, es relativamente barato y presenta una baja toxicidad, siendo muy efectivo en la protección contra los rayos UV. Es un material excelente para la fabricación de pantallas solares, porque absorbe los rayos ultravioleta y combate los potenciales problemas asociados a la exposición al sol (Martinello *et al.*, 2012).

Se puede emplear en productos para el cuidado de la piel, en protectores solares, productos de maquillaje, desodorantes, en recubrimientos de botellas y puede ser empleado para el pulido de superficies (Zalts, 2011).

2. Nanotecnología aplicada a la agricultura

La nanotecnología está introduciendo toda una nueva gama de plaguicidas, reguladores de crecimiento vegetal y fertilizantes químicos potencialmente más tóxicos que los usados actualmente, en momentos en que deberíamos redoblar el apoyo a sistemas alimentarios más sostenibles. Asimismo, es probable que la nanotecnología, al brindar nuevas herramientas de manipulación genética, extienda la ingeniería genética de cultivos. Aunque los nano sistemas

interactivos de control de la producción agrícola aún están muy lejos de materializarse en aplicaciones comerciales si es que algún día llegan a materializarse, la nanotecnología en la agricultura podría también llevar a una mayor auto-matización de la gestión agrícola, permitiendo escalas de producción crecientemente más grandes que requerirán cada vez menos mano de obra (Foladori y Invernizzi, 2008).

La nanotecnología tiene una contribución indirecta que procede de la aplicación de la nanotecnología a la biotecnología o a las tecnologías de la información. Por ejemplo, el desarrollo que la nanotecnología aporta a la biotecnología tiene aplicación en la detección y tratamiento de enfermedades de vegetales y animales, o en la selección de cultivos más resistentes a ciertas plagas o condiciones medioambientales. Los mismos esquemas de detección de enfermedades que se emplean en los seres humanos pueden emplearse en plantas y animales. La nanotecnología permite el desarrollo de sistemas de diagnóstico sencillo, rápido y preciso. Estos sistemas podrán determinar múltiples indicadores a partir de pequeñas cantidades de la muestra facilitando así una rápida toma de decisiones. Por “pequeñas cantidades” queremos decir unas cuantas moléculas o células. Muchos de estos análisis se llevarán a cabo usando pequeños biosensores desarrollados mediante técnicas de nanofabricación (Amalio, 2011).

2.1. Agroquímicos nanoestructurados

Los productos con nanotecnología son plásticos agrícolas a los que se les ha agregado plaquetas de arcilla nanoscópicas, que permite la liberación

controlada de herbicidas. También se está estudiando su empleo como revestimiento de fertilizantes de liberación controlada y mencionan que el diseño de formulaciones de plaguicidas a nivel nano, se dirige a la reducción de la dosis de ingrediente activo y a una menor residualidad y carga de contaminantes en el ambiente. La forma, carga y tamaño de las distintas partículas pueden afectar sus propiedades cinéticas (absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad). Estas propiedades son las que se aprovechan en la formulación de fertilizantes, productos de crecimiento vegetal y en el diseño de plaguicidas más potentes (Lugo-Medina *et al.*, 2010).

Los nanoplaguicidas pueden resultar más tóxicos que los agroquímicos convencionales para la flora y fauna silvestre. La tendencia es trabajar en la utilización de productos biocompatibles y biodegradables (nanocápsulas, sistemas micelares o dendrímeros), que una vez que hayan liberado al plaguicida puedan biodegradarse. Los nanoagroquímicos pueden disminuir considerablemente el uso de agroquímicos, al aprovechar su tamaño y mayor superficie de contacto, no obstante también podrían contaminar suelos y agua (Lugo-Medina *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Nanoagroquímicos en desarrollo.

Producto	Componente	Finalidad
Fertilizante-plaguicida.	Capsula de nanoarcilla que contiene estimulantes de crecimiento y agentes de biocontrol.	Liberación lenta de ingrediente activo. Una aplicación por ciclo.
Herbicida	Nanoformulado	Degrada el revestimiento de semillas de malezas en suelo, evitando su germinación.
Plaguicida-herbicida.	Nanocapsulas	Aumenta su potencia y permite la liberación dirigida de ingrediente activo.

Fuente: Lugo-Medina *et al.*, 2010

Algunos de los primeros nano agroquímicos lanzados al mercado son nano reformulaciones de reguladores de crecimiento vegetal, fungicidas y tratamientos integrales de semillas que ya existían. Las compañías agroquímicas han reducido el tamaño de las partículas de las emulsiones químicas existentes, llevándolas a dimensiones nanoscópicas, o han encapsulado los ingredientes activos en nanocápsulas diseñadas para abrirse bajo ciertas condiciones, como, por ejemplo, en respuesta a la luz solar, el calor o condiciones alcalinas en el estómago de un insecto. De igual manera que con

las nanocápsulas y nanoemulsiones que se están desarrollando en los sectores de alimentos y envasado, la finalidad que tiene el tamaño más reducido de las nanopartículas y emulsiones usadas en agroquímicos es hacerlas más potentes (Foladori y Invernizzi, 2008).

3. Nanotoxicología en plantas

La liberación antropogénica de nanopartículas al medio ambiente es un peligro potencial para la salud humana y la vida. La interacción entre las nanopartículas y los procesos biológicos está recibiendo cada vez más atención. Las plantas están expuestas todo el tiempo al ambiente, el aire y suelo por lo que las nanopartículas son absorbidas por las plantas a través de nano o micro aberturas y se translocan en las partes de la planta. La nanotoxicología en plantas es una disciplina que explora los efectos y los mecanismos tóxicos de nanopartículas en plantas, así como el transporte y la interacción con la planta. Muchos estudios se centran en la fitotoxicidad de las nanopartículas en las plantas, arrojando diferentes resultados, algunas demuestran efectos positivos en las plantas otros negativos y algunos muestran efectos poco significativos (Karl-Josef y Herth., 2011).

3.1. Vías de absorción y movilidad de las nanopartículas en las plantas

Las nanopartículas se modifican para lograr un determinado comportamiento que da lugar a interacciones inesperadas con las moléculas biológicas ya que tienen la propiedad de atravesar las paredes celulares con un proceso de translocación mediante el cual las nanopartículas pueden aparecer en otros lugares del organismo distintos a las de la entrada, sin presentar disoluciones

(IRSLL, 2011). Estas pueden ser absorbidos en las superficies de las plantas a través de aberturas naturales como los estomas o tricomas facilitando la absorción de las nanopartículas del aire, mientras en la superficie del suelo se facilita la absorción gracias a las raíces semipermeables (Dietz y Herth, 2011). La absorción de las nanopartículas en la planta tiene diversas rutas las cuales dependen del tamaño y superficie que utilizan estas, ya que las hojas o frutos tienen un epidermis que está cubierta por una cutícula que permite la entrada de las nanopartículas muy pequeñas, pero las propiedades permeables entre la cutícula, la epidermis y tricomas o estomas son diferentes ya que las propiedades de la cutícula puede cambiar de acuerdo a la temperatura (Schreiber, 2011).

La absorción de nanopartículas se puede dar en heridas hechas por herbívoros o por daños mecánicos en las raíces, vías por las cuales permiten la entrada de bacteria y puede ser posible la entrada de nanopartículas (Dietz y Herth, 2011)

En la figura 1 se muestran las vías de asociación, absorción y translocación de nanopartículas en plantas, el grosor de las líneas está relacionado con el nivel de importancia de las vías. El esquema incluye la parte aérea y las raíces, el movimiento o transporte dentro de la planta son representados por la parte azul. Las líneas discontinuas indican vías con muy bajas tasas de transporte

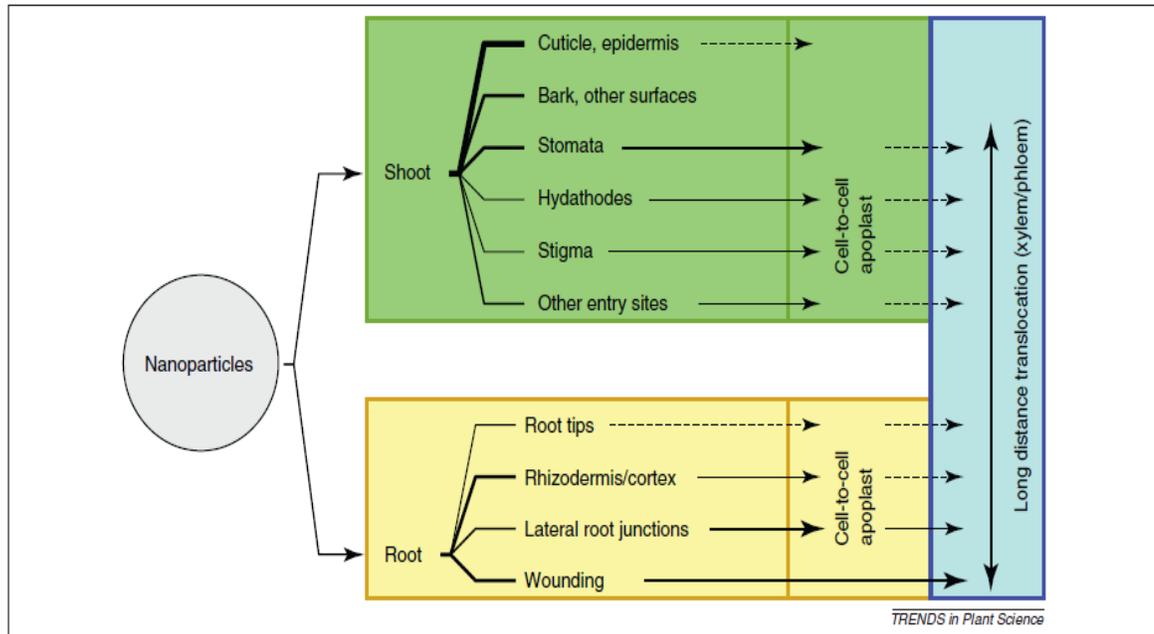


Figura 1. Vías de asociación de nanopartículas, la absorción y translocación en las plantas. Fuente; (Dietz y Herth, 2011).

3.1.1. Absorción de las nanopartículas en plantas silvestres

Las nanopartículas una vez que atraviesa la pared celular tiene que atravesar a los protoplastos de células vegetales intactas y hoyos en las paredes primarias periféricas de los vasos de xilema permiten la absorción más fácil ya que el tamaño máximo de los poros de la pared celular se encuentra en intervalos manométricos y en los pelos radiculares tienden a estar entre 3.5 y 3.8 nm, mientras las células del parénquima están en 4.5 y 5.2 nm lo que nos indica que las nanopartículas de tamaños menores a 5nm serán capaces de atravesar la pared celular de especies como el *Gingko biloba*, *Thuja plicata*, *Abies*, y *Eucaliptus regnas*, ya que estos tienen valores en rangos de micras más grandes (Dietz y Herth, 2011). El movimiento de las nanopartículas en los

vasos del xilema es el conducto más utilizado por las partículas dejando las cruces de hojas y peciolo (Thorne *et al.*, 2006).

3.1.2. Absorción de las nanopartículas en plantas cultivadas

La conductividad de las nanopartículas con las plantas varía significativamente entre las especies por que la membrana celular puede bloquear la libre circulación a través del xilema pero en especies como la calabaza (*Cucurbita máxima*) que se expuso a 0.5 g/l de nanopartículas de Fe₃O₄ en cultivo hidropónico el cual obtuvo una translocación hacia las hojas demostrando que hay absorción también en suelo (Dietz y Herth, 2011). La translocación de célula en célula depende del límite de tamaño de los plasmodesmos entre células. (Imlau *et al.*, 1999)

La figura 2 muestra la distribución de nanopartículas de tres tamaños diferentes, en la parte aérea de la planta, a nivel de órgano, tejidos y células. De todas las nanopartículas que están en contacto con la parte aérea de la planta una parte entra en el espacio intercelular, únicamente las nanopartículas más pequeñas logran atravesar las paredes celulares y pueden entrar al protoplasma

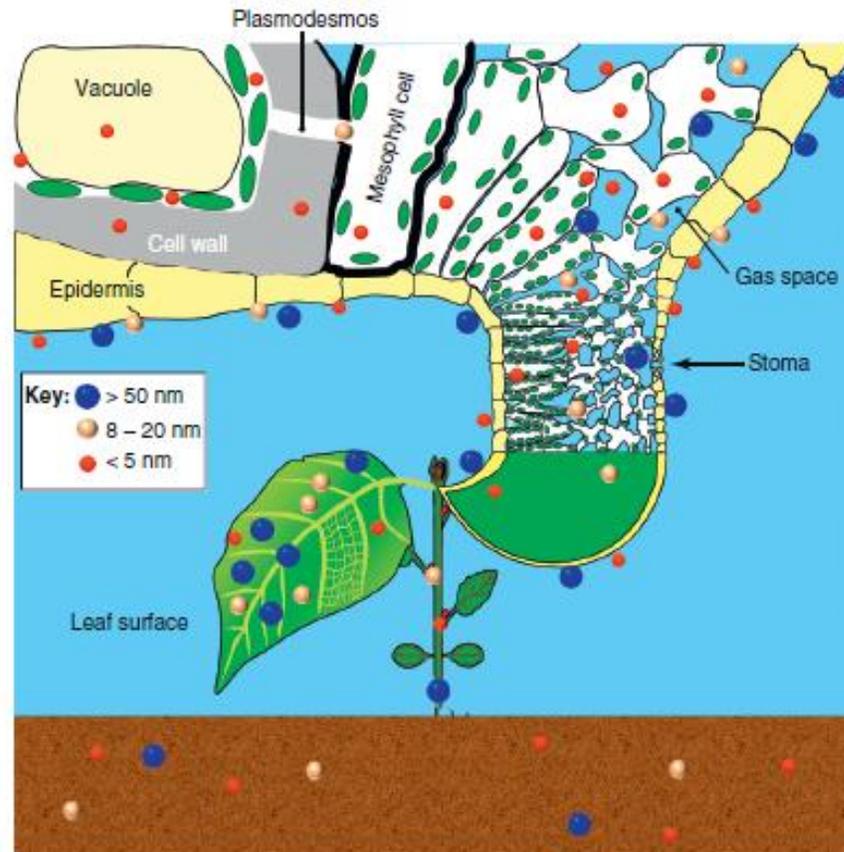


Figura 2. Distribución de las nanopartículas de tres clases de tamaños diferentes en brotes a nivel de órganos, tejidos y células. Fuente; (Dietz y Herth, 2011).

3.2. Toxicidad de las nanopartículas en las plantas

La absorción, transporte y toxicidad son parámetros en los cuales se han tenido estudios hacia humano, animales y plantas ya que la acumulación, persistencia e impacto de las nanopartículas metálicas siguen siendo fracciones insignificantes (Krug y Wick, 2011), pero por sus características físicas y químicas constituye efectos de toxicidad (Dietz y Herth, 2011), por su principal característica que es tamaño nanométrico produciendo más aumento de unidad por superficie y cuanto más tóxico sea la composición química de las

partículas en tamaños convencionales, mayor será la toxicidad en tamaños nanométricos (IRSLL, 2011), como es el caso de metales como el Cu, Cd, Hg, Ni y Zn que se unen a componentes celulares en estas incluyendo proteínas mientras otros metales como Cu y Fe que se encuentran como aceptores para formar OH estos son extremadamente reactivos los cuales tienden a aumentar el estrés oxidativo (Hall, 2002). En una investigación realizada por Asli y Neumann (2009) de suspensiones coloidales de nanopartículas de TiO y bentonita suministrada en raíz de Maíz (*Zea mayz L*) en las que la conductividad hidráulica es inhibida en un 10 por ciento. Mientras Kumari *et al* (2009) realizaron el estudio genotóxico y citotóxico que causan las nanopartículas utilizando raíz de *Allium cepa* como organismo indicador dando positivo en las células de la punta de la raíz indicado por las diferencias observadas en los cromosomas. En el estudio de Vannini *et al* (2010) concluyen que las nanopartículas reducen la germinación de semillas de *Hordeum vulgare* y en *Linum asitatissmun* reduce en el crecimiento de los brotes. El resultado del uso del uso de las nanopartículas magnéticas es que son capaces de penetrar los tejidos vivos, de migrar a diferentes regiones de las plantas y pueden acusar toxicidad en ellas (Corredor *et al.*, 2009).

En la figura 3 se puede observar los mecanismos que tienen las nanopartículas de toxicidad, las diferentes tonalidades de un mismo color indican los mecanismos relacionados a las interacciones mecánicas dependientes del tamaño, las actividades catalíticas de las grandes superficies, y las interacciones basadas en afinidad.

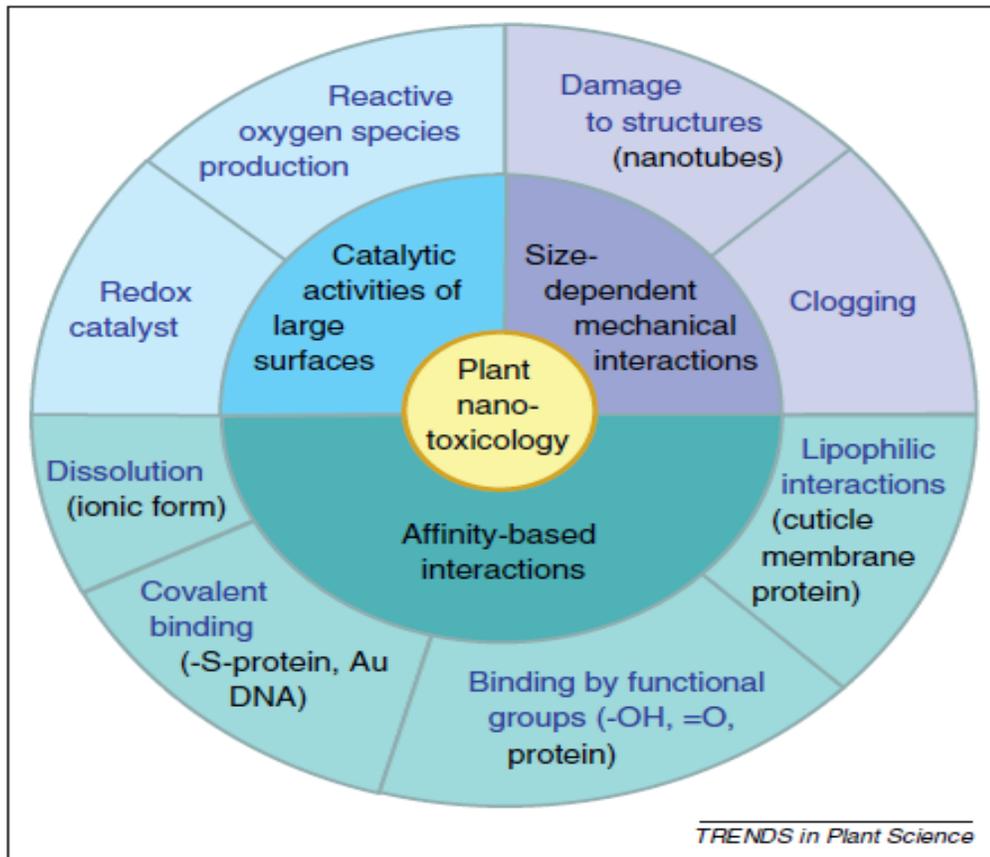


Figura 3. Categorización de los mecanismos de toxicidad de nanopartículas dependientes. Fuente; (Dietz y Herth, 2011).

3.2.1. Fitotoxicidad en biomasa de la parte aérea

Las Nanopartículas al absorberse en el cuerpo de la planta pueden utilizar diferentes caminos. La captación dependerá de las propiedades del tamaño y de la superficie de los nanopartículas. Las superficies exteriores de las hojas, las frutas y las células epidérmicas están cubiertos en su mayoría por la cutícula. Las nanopartículas muy pequeñas y lipofílicas se pueden incorporar en las zonas de fluido apolares de la cutícula, que contiene vías apolares y polares para la absorción. Propiedades de permeación difieren entre las

cutículas de las células epidérmicas y tricomas o estomas, por lo tanto, las propiedades biomecánicas de la cutícula también cambian con la temperatura. No se han analizado la interacción física y la penetración de los nanopartículas nacionales en la cutícula. Las nanopartículas grandes pueden penetrar a través de las zonas libres de la cutícula, como hidatodos, el estigma de las flores y estomas. Las aberturas de los estomas abiertos alcanzan valores de 10 micras de diámetro en plantas mesofíticas, como *Vicia faba* hojas expuestas a la luz alta. La penetración de los nanopartículas nacionales en las hojas a través de los estomas se ha demostrado después de la deposición del CeO_2 -NP. Sin embargo, las hojas recién desarrolladas durante una fase posterior de crecimiento continuo no contenían Ce por encima del límite de detección de 0,4 ng/g de peso fresco, con exclusión de toda translocación significativa a larga distancia de CeO_2 a través del floema. Del mismo modo, no se detectó en los órganos Ce sobre el suelo en el riego con CeO_2 -NP por 14 días. Las nanopartículas que entran en el espacio de gas intercelular de hojas mediante el paso a través de los estomas se depositan en la pared celular de la cavidad o vecinas células subestomáticas (Karl-Josef y Herth, 2011).

3.2.2. Fitotoxicidad en biomasa de raíz

Las nanopartículas también podrían adherirse a las raíces y ejercen toxicidad física o química en las plantas. Un creciente número de publicaciones han surgido recientemente en relación con las interacciones de las nanopartículas con plantas. La mayoría de estos estudios se centran en la

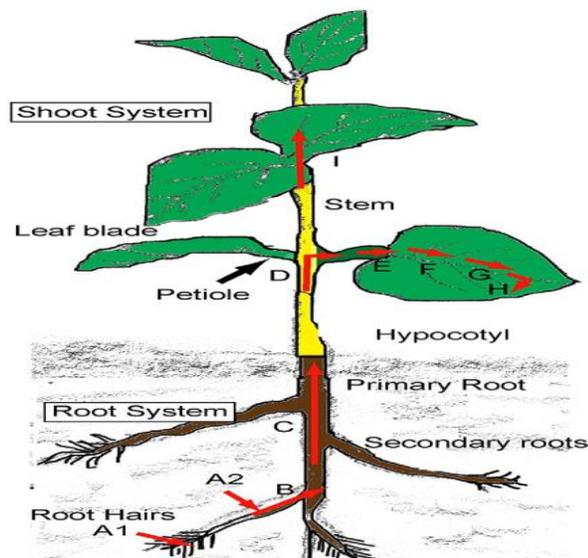
toxicidad potencial de las nanopartículas a las plantas y, tanto positivas como negativas o efectos insignificantes han sido reportados (Xingmao *et al.*, 2010).

Lin y Xing (2007) demostraron que la germinación de semillas y crecimiento de las raíces de las cinco especies de plantas superiores (rábano, violación, lechuga, maíz, y pepino) se vieron afectadas por cinco tipos de nanopartículas (de varias paredes de nanotubos de carbono, aluminio, alúmina, zinc y óxido de zinc) excepto para la inhibición de zinc a nanoescala (nano-Zn) en raigrás y óxido de zinc (nano-ZnO) en el maíz a 2.000 mg / L. La inhibición de crecimiento de las raíces varía mucho entre las nanopartículas y las plantas. Las suspensiones de 2,000 mg / L nano-Zn o nano-ZnO prácticamente terminados elongación de las raíces de las especies de plantas ensayadas. Concentraciones inhibitorias cincuenta por ciento (IC 50) de nano-Zn y nano-ZnO se estimaron en cerca de 50 mg / L de rábano, y alrededor de 20 mg / L de violación y raigrás.

Bajo tierra, órganos como raíces y tubérculos se desarrollan capas suberina como interfaz con el ambiente del suelo. Suberina se deposita en forma de una sola capa o lámina de varias capas en la superficie interna de la pared celular. La mayoría de las raíces primarias que se desarrollan en los suelos tienen un exodermis suberinizada así como una endodermis suberinizada. El exodermis evita el flujo de derivación apoplástico de solutos y el agua del suelo para el cilindro central, como se revela mediante la aplicación del colorante fluorescente 3-hidroxi-5, 8,10-trisulfonato pireno (STP), que tiene un peso de 508,4 g / mol y es móvil en el apoplasto, pero no pasa los

exodermis. Sin embargo, en la zona de las raíces más basal del desarrollo de las raíces laterales, las raíces laterales de nueva formación se rompen a través de la corteza y apoplástica derivación se hace posible. Por lo tanto, en el sitio de la formación de raíces laterales, mientras las nanopartículas podrían entrar en el xilema a través de la corteza y el cilindro central. La relación de flujo de derivación apoplástico y aumenta el flujo simplástica con el aumento de la transpiración. Sin embargo, las consecuencias de estas relaciones en la absorción y translocación de los parlamentos nacionales es desconocida. (Karl-Josef y Herth, 2011).

En la figura 4. Las nanopartículas inevitablemente interactuar con las plantas y estas interacciones, tales como la absorción y la acumulación de la biomasa de la planta afectará en gran medida su destino y transporte en el medio donde se distribuyen.



La figura. 4. Entrada de nanopartículas por las raíces. Las nanopartículas en un entorno natural son absorbidas por las raíces primarias (A2) o raíces laterales (A1 y luego B). Entonces Estas nanopartículas son transportados desde la raíz (C) a través del vástago (D e I) a la hoja (E, F, G, H). Las nanopartículas también pueden ser adsorbidas sobre la superficie de las raíces. (Xingmao *et al.*, 2010)

4. El hierro (Fe); elemento fundamental para los seres vivos

El hierro (Fe) es un elemento esencial para prácticamente todos los seres vivos en los que es necesario para importantes funciones celulares como síntesis de ADN, respiración y destoxificación de radicales libres. En la naturaleza se encuentra fundamentalmente en la forma Fe^{3+} formando parte de sales e hidróxidos de muy baja solubilidad, formas químicas que imposibilitan su uso por algunos seres vivos. La disponibilidad de este elemento es fundamental en el éxito o fracaso de microorganismos patógenos o simbióticos para invadir un organismo o para colonizar un ambiente determinado. Para resolver este problema, muchos organismos, que incluyen bacterias, hongos y plantas, producen pequeñas moléculas, péptidos no ribosomales muchas de ellas, de alta afinidad por el hierro llamadas sideróforos que actúan de manera específica como agentes quelantes para secuestrar hierro en presencia de otros metales y reducirlo a Fe^{2+} , una forma mucho más soluble y aprovechable para su nutrición. Los sideróforos bacterianos han despertado gran interés en los últimos años debido al potencial que tienen para el control biológico de hongos y bacterias fitopatógenas y por constituir un mecanismo de promoción de crecimiento en rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Los análogos de estas moléculas en las plantas, conocidos como fitosideróforos, también juegan un papel fundamental en la nutrición del hierro en las plantas (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012).

La importancia de los fitosideróforos ha recobrado fuerza en virtud del incremento en la salinidad de las aguas de riego y pH del suelo, producto del abatimiento de los mantos acuíferos que resultan en una reducción de la disponibilidad de hierro. En esta revisión se aportan elementos básicos para entender los tipos, la función, la importancia, interacciones y los mecanismos de acción de los sideróforos de origen bacteriano y vegetal (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012).

El término “micronutriente” es utilizado en agricultura para denominar aquellos elementos esenciales para los cultivos, que se presentan en concentraciones extremadamente bajas en los suelos y tejidos vegetales. Hasta el momento se ha demostrado la esencialidad de siete elementos en todas las especies vegetales. El Fe, Mn, Cu y Mo forman parte de grupos prostéticos que catalizan reacciones de óxido-reducción, el Fe y Zn forman complejos enzima-sustrato (Ferraris, 2011).

Participa en muchas funciones biológicas tal como transportador de electrones, fijación de nitrógeno, síntesis de ADN y varias reacciones de la fotosíntesis (Xu *et al.*, 2005).

5. El Zinc (Zn); elemento fundamental para los seres vivos

El Zinc (Zn) es uno de los 17 nutrientes esenciales para el crecimiento y reproducción de la planta. El Zn es clasificado como un micronutriente ya que la planta lo requiere en menor cantidad que otros nutrientes, pero es esencial (Flores *et al.*, 2010), el cual cataliza ciertas reacciones enzimáticas como es el componente de la síntesis de la fructosa-6-fosfato, la cual es un importante

metabolito de la glicólisis y por lo tanto de la fotosíntesis (Flores *et al.*, 2010; Ferraris, 2011), mientras el Mo es un componente que interviene, junto con el Zn, en la síntesis de proteínas (Ferraris, 2011), es también un componente esencial de la enzima RNA polimerasa responsable por la canalización de la síntesis del RNA influyendo así la formación de proteínas. Es esencial para la estabilidad de los ribosomas. Se requiere en la síntesis del ácido indol-3 acético a partir del triptófano, el cual es importante para regular el crecimiento de la planta (actividad auxínica). Activa de forma específica la enzima glutámico deshidrogenada que está relacionada con la asimilación del amonio (NH_4) (Flores *et al.*, 2010).

La absorción del zinc por la raíz se ve influenciada por otros elementos, como calcio, magnesio, hierro, manganeso y cobre (antagonismo). Sin embargo, el antagonismo de absorción más documentado es el que presenta en situaciones de exceso de fósforo. La movilidad del zinc dentro de la planta es muy baja. En las hojas viejas, es bastante inmóvil y se transloca con dificultad a los tejidos en crecimiento, sobre todo en plantas con deficiencia. Cuando los aportes de zinc son altos, suele acumularse en los tejidos de la raíz (Flores *et al.*, 2010).

6. El titanio (Ti); elemento para los seres vivos

Es un elemento químico, un metal de transición y el cuarto metal estructural más abundante en la superficie terrestre y el noveno en la gama de metales industriales. No se encuentra en estado puro sino en forma de óxidos. Siempre se ha asegurado que el titanio es un metal compatible con los tejidos del organismo humano que toleran su presencia sin reacciones alérgicas del

sistema inmunitario. Que no es cancerígeno, que no es tóxico; que se degrada rápidamente pero las nanopartículas de TiO₂ tienden a romper el ADN y causa daño cromosómico, inflamación, aumentando el riesgo de cáncer; se acumulan en diferentes órganos debido a que el cuerpo no tiene ninguna manera de eliminarlos. Son tan pequeños que pueden ir en cualquier parte del cuerpo, incluso a través de las células, e interferir con los mecanismos subcelulares. Vagan por todo el cuerpo causando estrés oxidativo que puede conducir a la muerte celular. Es un nuevo mecanismo de toxicidad, una reacción físico-química (Castro, 2012). Aunque en las plantas se puedan tener resultados favorables, en su estudio Carvajal *et al* (1992) deducen que el aporte foliar de titanio es asimilable de forma general de los bioelementos y la utilización del pericarpio del fruto indico incrementando el índice de eficiencia en este tejido lo cual indica que tiene un papel similar al del Fe en algunas rutas biosintéticas en el pimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diferentes actividades planteadas en la presente investigación, fueron llevadas a cabo en las siguientes dos etapas:

Localidad de Evaluación

La primera etapa se realizó en el invernadero del CINVESTAV Unidad Saltillo ubicado en Ramos Arizpe localizado en las coordenadas 100° 57'2" longitud oeste y 25° 32'26" latitud norte, y a una altitud de 1,380 msnm, aproximadamente a 10 km al norte de la Ciudad de Saltillo, teniendo en el invernadero una temperatura mínima de 10°C a 15°C a una máxima de 30°C.

La segunda fase se realizó en el Laboratorio de Citogenética ubicado en el Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México.

Material Biológico

Se utilizó semilla de frijol de la variedad Pinto Saltillo, Proporcionada por el INIFAP, la semilla de girasol utilizada fue proporcionada por la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Primera Etapa

Establecimiento de los cultivos en invernadero

Para esto se utilizaron bolsas de polietileno color negro con medidas de 22 x 42 cm y previamente etiquetadas, las cuales fueron llenadas con 7 kg de suelo teniendo un total de 28 bolsas por cultivo.

El suelo utilizado se extrajo de dos puntos diferentes del CINVESTAV Saltillo, para esto el 17 de julio se colectó el suelo, en el primer punto, posteriormente se tamizó y se almacenó en costales, las partículas del suelo eran muy finas y arcillosas. La segunda muestra se obtuvo de un suelo de uso agrícola y presentaba una mejor textura que el anterior los cuales se sometieron a un secado a la sombra.

Los diferentes suelos se mezclaron con la finalidad de obtener un suelo homogéneo.

Para la siembra un día antes se realizó una saturación de suelo con 1.5 litros de agua, posteriormente se sembraron dos semillas por bolsa de cada cultivo, con la finalidad de garantizar la obtención de al menos una planta por bolsa.

Manejo de los cultivos en invernadero

Los riegos se realizaron generalmente cada dos días, dependiendo de la demanda de agua del cultivo, de acuerdo a la fase reproductiva en la que se encontraba y al porte de la planta.

Monitoreo del cultivo

Para garantizar el correcto desarrollo de los cultivos se realizaron monitoreos diarios, tratando de identificar algún problema con las plantas mediante la observación de estas, para determinar oportunamente una posible enfermedad, plaga o algún tipo de estrés. En caso de observar algún problema se procedía a la identificación de la causa y aplicación de medidas para su control.

Control de enfermedades

Se observó a las plantas de frijol amarillentas y con ahogamiento de tallo, y las raíces de un color ligeramente oscuros, síntomas de una infección avanzada de *Fusarium lateritium*, por lo tanto se procedió a la aplicación de un fungicida de nombre Blindaje 50 siendo el ingrediente activo de este producto el benomilo, el cual se aplicó junto con Captan 50 a una dosis de 10 g.l⁻¹, repitiendo tres aplicaciones de estos productos.

Aplicación de Nano partículas

Para la preparación de las soluciones de nano partículas de ZnO, TiO₂, Fe₃O₄, FeOOH y Fe₂O₃, fue necesario disolver en 10 litros de agua des ionizada 30 gramos para la primera concentración y 60 g para la segunda y obtener las concentraciones de 3 g.l⁻¹ y 6 g.l⁻¹ respectivamente. Quedando los tratamientos por cultivo, como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Aplicación de cinco Nano partículas en dos concentraciones a plantas de girasol.

Tratamiento	Formula	Descripción	Concentración de Nanopartículas en g/l
1	0	Control	0
2	Fe ₃ O ₄	Magnetita	3
3	Fe ₃ O ₄	Magnetita	6
4	Fe ₂ O ₃	Hematita	3
5	Fe ₂ O ₃	Hematita	6
6	FeOOH	Ferrihidrita	3
7	FeOOH	Ferrihidrita	6
8	ZnO	Óxido de zinc	3
9	ZnO	Óxido de zinc	6
10	TiO ₂	Dióxido de titanio	3
11	TiO ₂	Dióxido de titanio	6

Cuadro 3. Aplicación de cinco Nano partículas en dos concentraciones a plantas de frijol.

Tratamiento	Formula	Descripción	Concentración de Nanopartículas en g/l
1	0g	Control	0
2	ZnO	Óxido de zinc	3
3	ZnO	Óxido de zinc	6
4	TiO ₂	Dióxido de titanio	3
5	TiO ₂	Dióxido de titanio	6

Se realizaron cinco aplicaciones de 300 ml de nanopartículas de acuerdo al tratamiento, cada aplicación tuvo una separación de 15 días cuidando de no tener contacto directo con las hojas de las plantas, se tuvo un monitoreo de cada planta de los diferentes cultivos, con el fin de observar anomalías en las plantas ya sea de enfermedades o plaga alguna. A lo largo del proyecto se realizaron dos muestreos destructivos para su análisis. Las nanopartículas que se utilizaron se obtuvieron de la empresa Materiales Nano estructurados S.A de C.V.

Análisis de Biomasa

Variables evaluadas para biomasa

Para determinar la biomasa se evaluaron las siguientes variables: peso seco (PSR) y peso fresco (PFR) y longitud de raíz, además peso seco (PSPA) y peso fresco (PFPA) y longitud de parte aérea.

Peso fresco y peso seco de la parte aérea y raíz.

A los 23 y a 73 días después de la siembra se tomaron plantas completas de girasol y de frijol respectivamente, las cuales se pesaron en una balanza marca Ohaus, modelo Pioneer PA214. Para obtener el peso fresco tanto de la parte aérea como de la raíz de cada planta, se etiquetaron y posteriormente fueron colocadas en una estufa marca Felissa 2000 por tres días a 75°C y se volvió a pesar para obtener el peso seco, esto con la finalidad de conocer la producción de biomasa de los diferentes cultivos en cada tratamiento.

Longitud (cm) de la parte aérea y la raíz

Durante el muestreo se midió la longitud tanto de la raíz como de la parte aérea, La longitud de la parte aérea se midió desde la base del tallo hasta su ápice y para la longitud de la raíz se tomó desde la base del tallo hasta el ápice de la raíz.

Segunda Etapa

Análisis Histológico de tallo y raíz

Se estudió el número de vasos de xilema y el área de vasos de xilema tanto de raíz como de tallo, de plantas de maíz y del frijol.

Toma de muestras

Las muestras de tejidos de cada tratamiento se tomaron a los 23 y 73 días después de la siembra en girasol y frijol respectivamente, de la siguiente

forma: se cortaron 11 muestras de tallo y de raíz de girasol y 7 de frijol, la muestras raíz se tomaron a 5 cm abajo del nivel de suelo y las de tallo 5 cm sobre el nivel del suelo.

Para el estudio histológico se utilizó la técnica de la parafina como sigue:

Fijación

De las mismas plantas, antes de ponerlas al secado se tomó 1cm de muestra de tallo y raíz en fresco, el cual se fijó en una solución de FAA (5 ml de formaldehído, 5 ml de ácido acético glacial y 90 ml de alcohol etílico al 70%), dejándolo actuar por un mínimo de ocho días para lograr una correcta fijación y conservar los tejidos con un mínimo de alteraciones.

Deshidratación

Trascurrido el tiempo de fijación se pasa a una deshidratación alcohólica del cual se le quitar el agua de los tejidos para esto se pasó la muestra por diferentes agentes deshidratantes, soluciones de alcohol etílico al 50, 60, 70, 85 y 96 % más colorante eosina para diferenciarlos; continuando con alcohol etílico absoluto I, alcohol etílico absoluto II, alcohol etílico absoluto más xilol en proporciones de 3:1, alcohol etílico absoluto más xilol en proporciones de 1:1, alcohol etílico absoluto más xilol en proporciones de 1:3, xilol puro I y xilol puro II, en esta serie de soluciones permanecerán por intervalos de dos horas en cada una.

Inclusión en parafina

Después de la deshidratación los tejidos se colocaron en frascos con xilol, posteriormente se pasarán a estufa a 30 °C, agregando parafina y ahí permanecen por 24 horas a la misma temperatura, después se cambian a 45 °C agregando parafina hasta saturar, en seguida se sube la temperatura a 55°C y la mezcla xilol y parafina se decanta y al tejido que quede se le agrega parafina pura derretida y se vacía a moldes de aluminio, en donde con una aguja de disección caliente se acomodan los tejidos en forma longitudinal, se colocaron etiquetas con el correspondiente material y fecha de colecta, posteriormente se dejan solidificar para sacar los cuadros de parafina con los tejidos, se utilizó una estufa GCA precisión scientific THELCO modelo 18.

Cortes en el micrótomó

Se procedió al seccionamiento para esto se eliminó el exceso de parafina dándole forma con ayuda de una navaja, se cortó en un pedazo de parafina más pequeño el cual contenía el tejido tratando para evitar su ruptura, después se montaron en la platina del micrótomó de mano "820" Spencer American Optical, se niveló y se orientó hacia la cuchilla previamente limpia, el micrótomó se graduó a 20 micras de grosor y se giró la manivela para obtener una tira larga de parafina con los cortes longitudinales.

Montaje de tejidos en portaobjetos

La tira de parafina obtenida se cortó en partes, seleccionado 5 cortes, los que posteriormente se colocaron con ayuda de una aguja de disección, sobre portaobjetos con adhesivo de Haupt (1g de gelatina, 15 ml de glicerina, 2g de metabisulfito de sodio por cada 100 ml de agua destilada) y unas gotas de agua destilada, se le dio calor en una lámpara de alcohol tratando de que el tejido quedara bien adherido y extendido. Se retiró el exceso de agua con un trapo, ya listas las muestras en el portaobjetos se colocaron en gradillas, identificándolas de acuerdo al tratamiento y fechas correspondientes.

Coloración

Para la coloración se prepararon una serie de reactivos en frascos coplin con capacidad para ocho portaobjetos donde se colocaron las preparaciones de manera que el tejido quedara hacia la izquierda, esto para identificar la muestra; con la ayuda de unas pinzas las preparaciones se pasaron por el primer frasco que contiene xilol puro (para quitar la parafina) por un lapso de 10 minutos, posteriormente se enjuagaron con alcohol etílico absoluto al 96%,85%,70%, 60% y 50% y enjuague con agua destilada y después colocadas en una solución de safranina al 1% (1 g de safranina por cada 100 ml de agua destilada) durante 15 minutos; concluido este tiempo las preparaciones se pasaron por una serie de enjuagues: agua normal, agua destilada, alcohol etílico al 50%, 60%, 70%, 85% y 96% respectivamente, posteriormente los tejidos se pasaron al colorante verde rápido al 0.5% (0.5 g en 100 ml de

alcohol de 96%) por espacio de 5 a 7 segundos hasta que se tiñeron de rojo los tejidos diferenciados y de verde los no diferenciados, después se enjuagaron en alcohol etílico de 96%, alcohol absoluto y alcohol absoluto II, posteriormente pasaron a solución carbol-xilol por 5 minutos para fijar los colores, por último se colocaron en xilol puro (con el fin de eliminar totalmente la parafina).

Después con ayuda de pinzas se sacaron las preparaciones del xilol y se colocó unas gotas de bálsamo de Canadá sobre el tejido y encima el cubreobjetos, tratando de cubrir toda la muestra y cuidando de que no se formaran burbujas evitando mover el cubreobjetos, se quitó el exceso de bálsamo con una toalla de papel absorbente. Se dejaron secar las preparaciones en las gradillas que se marcaron con los tratamientos correspondientes por espacio de una semana.

Análisis de imágenes

Con la ayuda del microscopio se llevó a cabo el análisis de imágenes de 11 tratamientos en raíz de girasol con 25 cortes longitudinales con un total de 275 cortes, seleccionando 5 muestras por tratamiento con los objetivos de 2.5, 5, 10 y 40x, teniendo la misma cantidad para tallo. En frijol fueron tres tratamientos para raíz y para tallo, con 25 cortes teniendo un total de 125 cortes y se tomaron imágenes con los objetivos de 2.5, 5, 10 y 40 x. Se tomaron 15 fotografías por tratamiento para identificar las variables de micromorfología como; número de vasos de xilema y el área de vasos de xilema, tanto de raíz

como de tallo de girasol y frijol. Se utilizó un microscopio Vista Visión con cámara digital Pixera Winder Pro y un software de medición AxionVision versión 4.8 con objetivos de 5 X 10 X y 40X.

Análisis comparativo

Se realizó una comparación de medias de los valores obtenidos con los 11 tratamientos (5 nanopartículas por 2 concentraciones más un control), mientras que en el frijol se tienen 5 tratamientos (2 nanopartículas por 2 concentraciones más un control).

Los tratamientos fueron generados a través de la combinación de los factores de estudio, considerando el factor A como nanopartículas (5) y factor B como niveles (3), generando un total de 11 tratamientos para el caso del girasol (Cuadro 2).

En el frijol los tratamientos generados a través de la combinación de los factores de estudio, considerando el factor A como nano partículas (2) y factor B como niveles (3), generando un total de 7 tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biomasa

Peso Fresco en Raíz de Girasol y Frijol

En esta variable se encontró que al aplicar la nano partícula Ferrihidrita a 6 g.l^{-1} a plantas de girasol de 23 días de desarrollo, presentaron un PFR de 1.13 g superando al control (0.16 g de peso fresco) en un 606.25% , mientras que a los 73 días de desarrollo el girasol muestra un comportamiento similar teniendo el control un PFR de 33.55 g superado por la magnetita 6 g.l^{-1} (39.59 g) en un 18% . Observando que en ambos estadios de desarrollo el control se encuentra por debajo, sobresaliendo en peso fresco de raíz las plantas de girasol tratadas con las nanopartículas (ferrihidrita y magnetita) ambas de Hierro a la misma concentración (Figura 5).

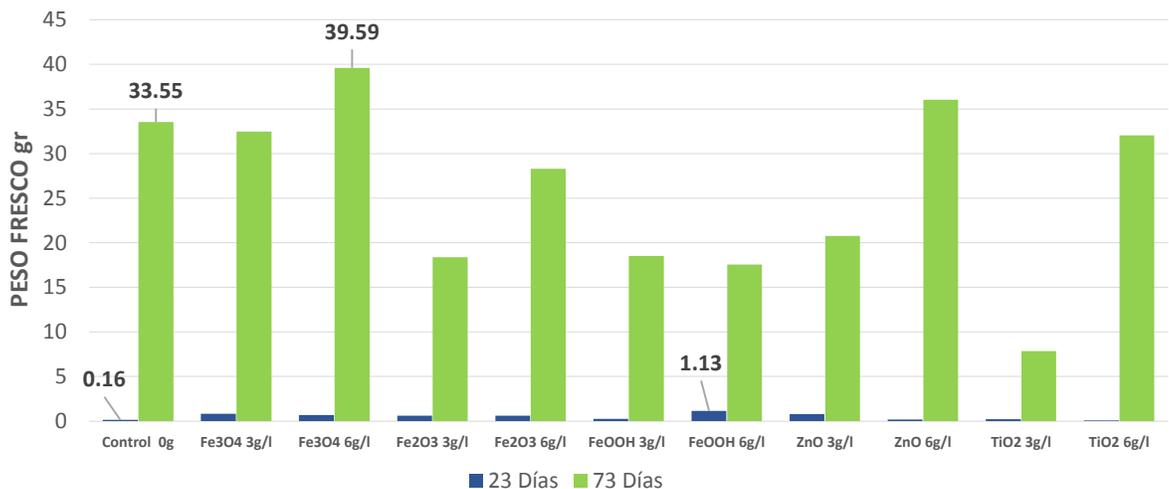


Figura 5. Efecto de la aplicación de nanopartículas a tres concentraciones sobre el peso fresco de raíz en girasol *Heliantus annuus L.* a 23 y 73 días de desarrollo.

En la Figura 6 se puede observar que en Frijol el control presentó un peso fresco de raíz de 0.28 g mientras que el tratamiento con Óxido de Zinc a 3 g.l⁻¹ presentó un PFR de 0.41 g, superando al control en 46.4 %, en plantas con 23 días de desarrollo. Mientras que en el muestreo a los 73 días en el tratamiento con Óxido de Zinc y una concentración de 6 g.l⁻¹, tuvo un PFR de 4.22 g y supero al control (1.33 g) en un 217.29%, observándose que la aplicación de la nanopartícula de Óxido de Zinc genera efectos positivos.

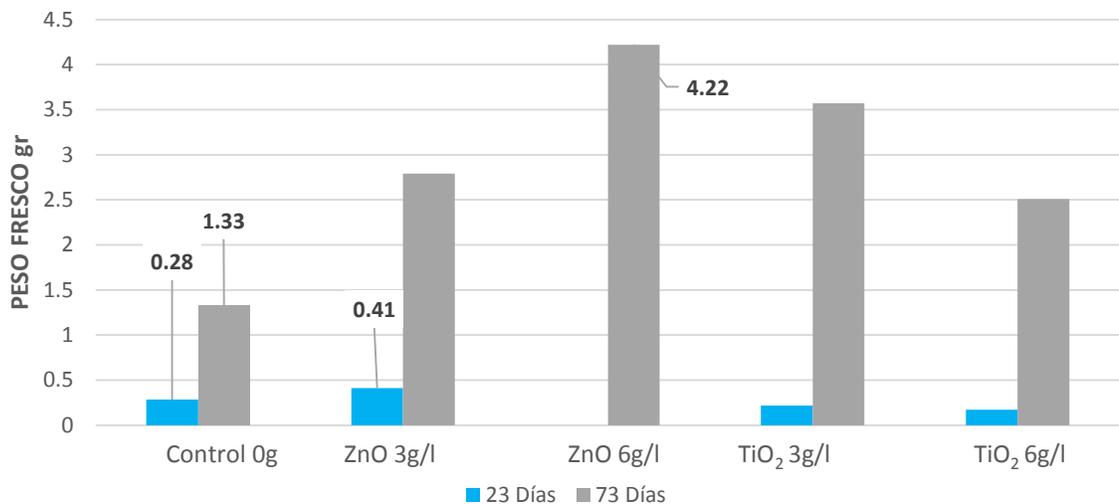


Figura 6. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso fresco de raíz en frijol *Phaseolus vulgaris* L. a 23 y 73 días de germinación.

Los resultados coinciden con lo reportado por Fernández-López (2009), quien indicó que se ha encontrado en los cloroplastos de la planta ferritina, proteínas que tienen la función de almacenar el Hierro, compuesto principal de las nanopartículas magnetita y ferrihidrita, las cuales liberan el Fe de acuerdo a las necesidades metabólicas de las plantas. Conforme se elimina el Fe, las concentraciones de magnetita en la ferritina aumentan y la ferrihidrita

disminuye, esto puede explicar que la adicción de la magnetita al suelo favorece a la planta.

Lee *et al.*, (2012), mencionan que mediante el recubierto de nanopartículas de plata se tiene una toxicidad más pronunciada cuando el medio es agar que cuando el medio es suelo, observando que la aplicación de las nanopartículas de plata no beneficia a las plantas.

Peso Seco en Raíz de Girasol y Frijol

Los resultados obtenidos de peso seco de raíz en girasol, presentaron el mismo comportamiento a los 23 y 73 días de desarrollo, ya que en ambos periodos el Óxido de Zinc a 3 g.l^{-1} y 6 g.l^{-1} superaron al control, a los 23 días lo superaron en un 262.5% mientras que a los 73 días de desarrollo superaron al control en un 36.1%, observándose que el Óxido de Zinc produjo un efecto positivo en plantas de girasol, ya que se conserva mayor materia orgánica en comparación al testigo (Figura 7).

En el caso del frijol la nanopartícula de Dióxido de Titanio indujo un mayor peso seco de raíz en ambas etapas del desarrollo, ya que a los 23 días el Dióxido de Titanio a 3 g.l^{-1} tuvo 0.15 g pero superó al control (0.06 g) en un 150%, mientras que a los 73 días el control tuvo un PSR de 0.47 g y fue superado por el Dióxido de Titanio a 3 g.l^{-1} (0.83 g) en un 76.6 %, indicando un benéfico en la planta de frijol (Figura 8).

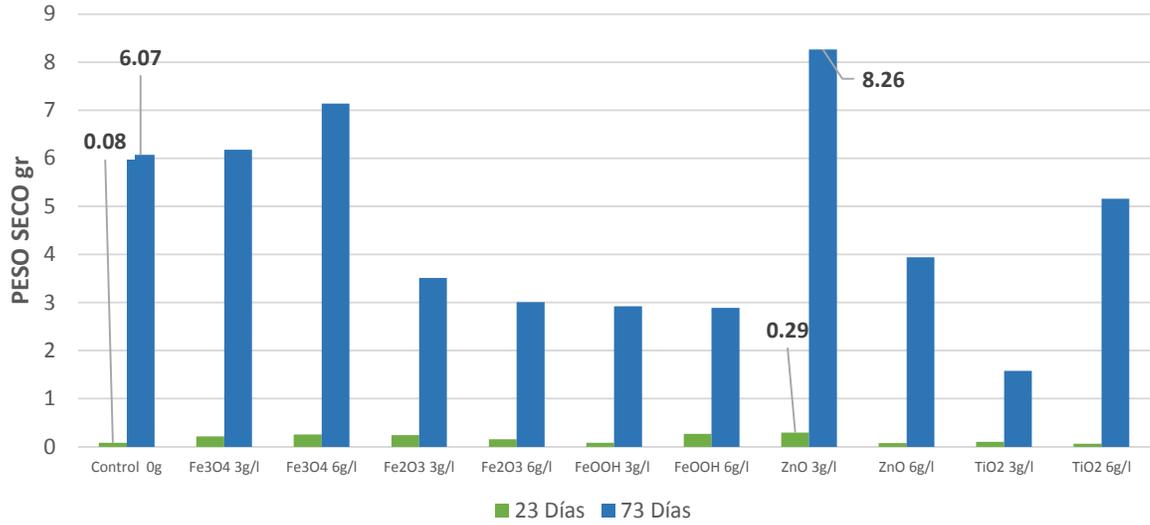


Figura 7. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso seco de raíz en girasol *Heliantus annuus* L. a 23 y 73 días de desarrollo.

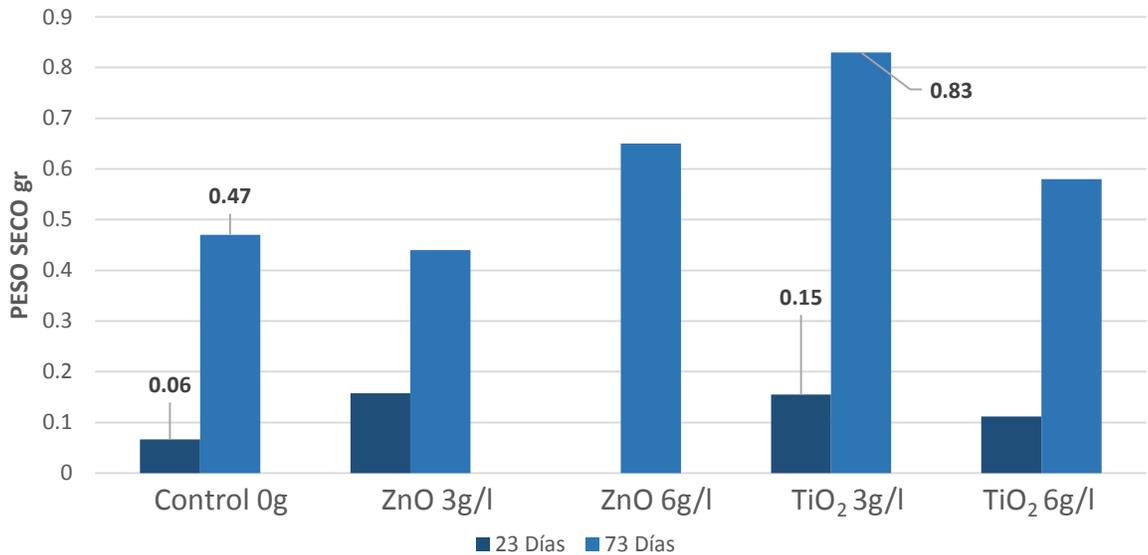


Figura 8. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso seco de raíz en frijol, *Phaseolus vulgaris* L. a 23 y 73 días de desarrollo.

Los resultados coinciden a los reportados por Prasad *et al.* (2012) que demostraron que las nanopartículas de ZnO con tamaños de 25 nm a concentraciones de 1000 ppm, provocaron un adelanto en la floración de plantas de cacahuate, de igual forma beneficiaron la germinación de las plantas, y el índice de clorofila, comparadas con aplicaciones de Zn quelatado. Pero para el caso del frijol se expresó una inhibición de germinación de la planta tratada con la nanopartícula de Óxido de Zinc a concentración de 6 g.l^{-1} .

Longitud de Raíz en Girasol y Frijol

Los resultados de la longitud de raíz en girasol nos muestra que a los 73 días de desarrollo, el control midió 15 cm superado en un 30.2% por la aplicación de las nanopartículas de Ferrihidrita a 3 g/l y el Óxido de zinc a 6 g/l ambas con la misma longitud de raíz de 21.5 cm, mientras que en el periodo de 23 días el control presentó una longitud de raíz de 4.5 cm, superado por la aplicación de Magnetita a 6 g/l (15 cm) Indicando que las plantas respondieron a diferentes nanopartículas de acuerdo a su desarrollo (Figura 9).

Con respecto a longitud de raíz en frijol se observa Figura 10, que a los 23 días del desarrollo el control presentó una longitud de 7.5 cm, con la aplicación de Dióxido de Titanio a 3 g.l^{-1} fueron 15 cm por lo que este superó al control en un 100 %. Mientras que a las 73 días el control (9 cm) fue superada por la aplicación de la nanopartícula Óxido de Zinc a 6 g.l^{-1} (14.5 cm de longitud de raíz) con un 61.11%.

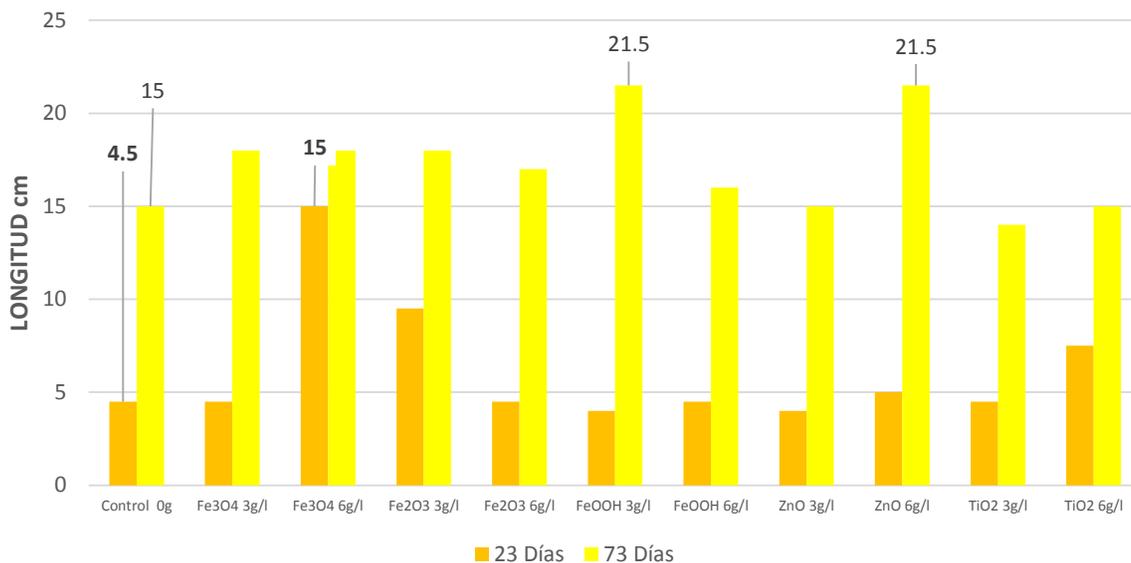


Figura 9. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre la longitud de raíz en girasol, *Heliantus annuus L.* a 23 y 73 días de desarrollo.

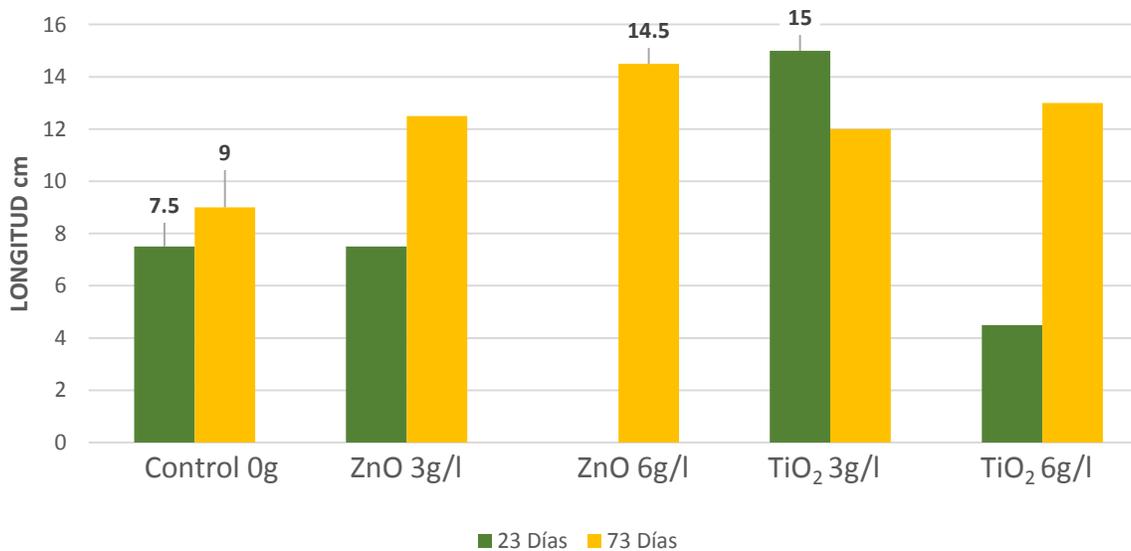


Figura 10. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre la longitud de raíz en frijol, *Phaseolus vulgaris L.* a 23 y 73 días de desarrollo.

Xingmao *et al.* (2010) demostraron que nanopartículas de TiO₂ a concentraciones de 2.5 a 40 g.kg⁻¹ en suelo, mejoraron el crecimiento de espinacas debido a la mejora de la capacidad de fotosíntesis en hojas y fijación de nitrógeno en raíces, coincidiendo con los resultados obtenidos en ésta investigación. Por otra parte Ursache-Oprisan *et al.* (2010) mencionan que la influencia de suspensiones de nanopartículas magnéticas en plántulas de girasol responden a la magnetita y ferrita de cobalto, provocando la inhibición aparente de la clorofila mientras que para la biosíntesis de ferrita de zinc en algunas concentraciones parecía tener efectos estimulantes sobre la clorofilas, así como en los niveles de caroteno.

Peso Fresco en Parte Aérea en Girasol y Frijol

En la Figura 11 se puede observar que en plantas de girasol de 23 días de desarrollo, el peso fresco de la parte aérea del control presento 1.35 g y fue superado por la Magnetita (1.54 g) en un 14.07 %. Sin embargo a los 73 días tenemos un comportamiento diferente ya que el control presento 185.69 g superó a todas las plantas tratadas con las nanopartículas a sus diferentes concentraciones.

De igual forma como se puede observar en la Figura 12 que en frijol, el peso fresco de la parte aérea a los 23 días de desarrollo, el control tuvo un peso de 1.89 g y supera a todos los tratamientos restantes, mientras que a los 73 se encuentran otros resultados ya que el control presento un PFPA de 8.33 g y fue superado por el Óxido de Zinc a 6 g/l (15.65 g) en un 87.87 %.

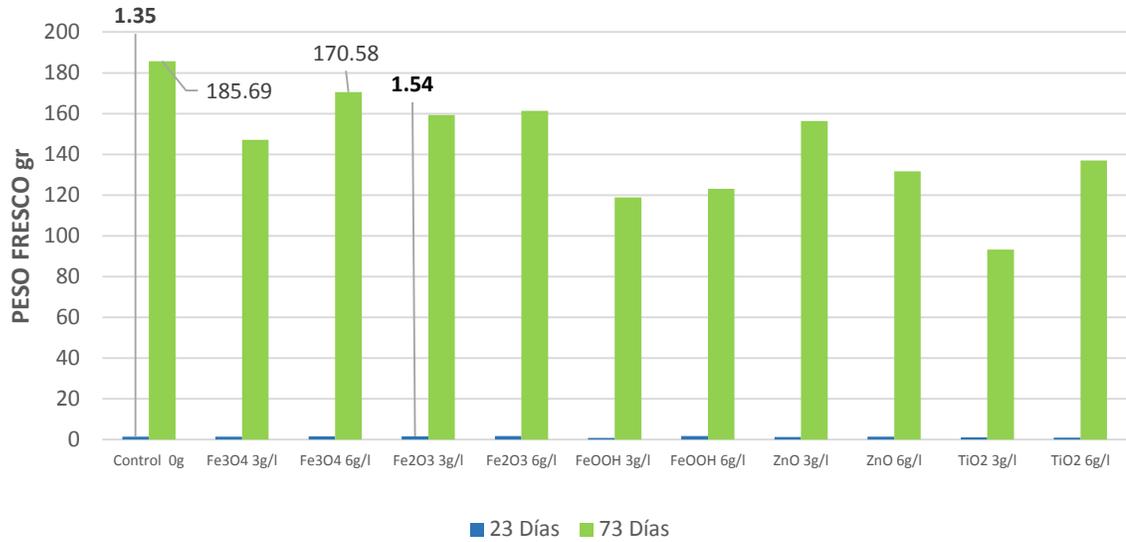


Figura 11. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso fresco de la parte aérea en girasol, *Heliantus annuus* L. a 23 y 73 días de desarrollo.

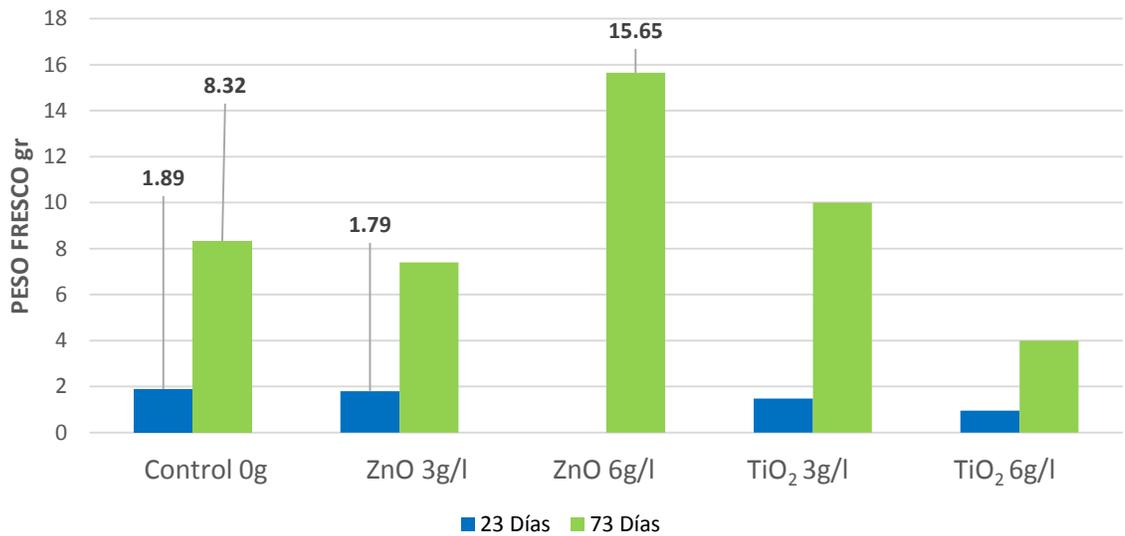


Figura 12. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso fresco de la parte aérea en frijol *Phaseolus vulgaris* L. a 23 y 73 días de germinación.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Cañas *et al.* (2008), quienes mencionan que los estudios realizados en plantas, demuestran que

existe fitotoxicidad por nanopartículas, sobre todo en altas concentraciones. Nanotubos mono capa de carbono mostraron afectaciones significativas en la zona de elongación radicular de cultivos como tomate, repollo, zanahoria y lechuga.

Peso Seco en Parte Aérea en Girasol y Frijol

En girasol a los 23 días de desarrollo se observa (Figura 13) que el control presentó un peso seco de la parte aérea de 0.20 g y fue superado por la Magnetita a 3 g/l (0.2267 g) con un 13.35%, lo que difiere de lo encontrado a los 73 días donde el control tuvo un PSPA que fue de 35.24 g y supero a todos los tratamientos de nanopartículas, Esto nos muestra que la aplicación de nanopartículas en girasol pueden presentar toxicidad a mayor etapa de desarrollo.

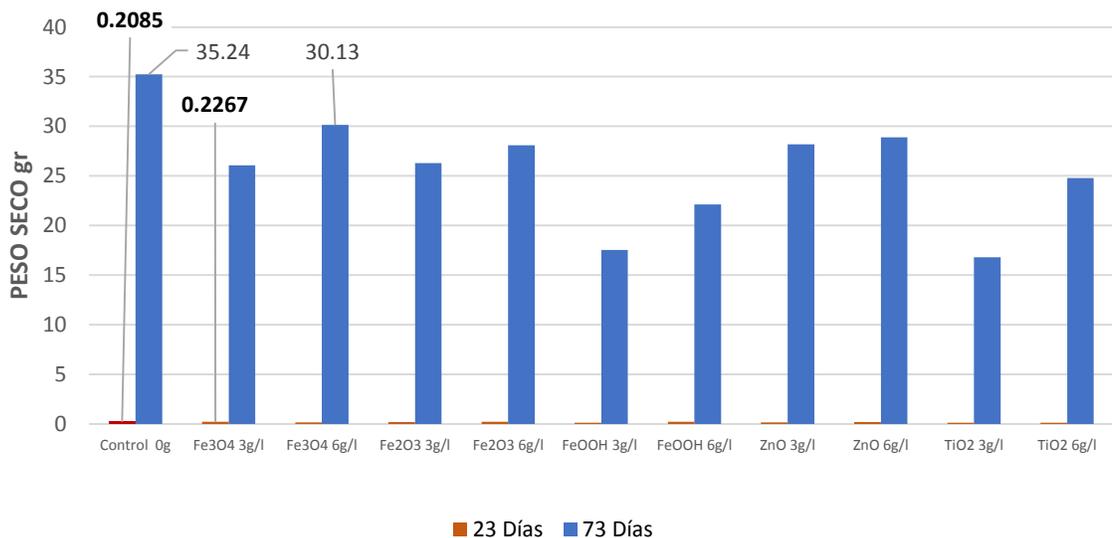


Figura 13. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso seco en parte aérea de girasol *Heliantus annuus L.* a 23 y 73 días de desarrollo.

En el caso del frijol observamos que el peso seco de la parte aérea, la aplicación de la nanopartícula Óxido de Zinc supero al control en ambas etapas del desarrollo, a diferentes concentraciones, a los 23 días el Óxido de Zinc a 3 g/l de 0.2428 g supero al control de 0.2338 g en un 3.7 %, a los 73 días el control con un PSPA 1.74 g fue superado por la aplicación de Dióxido de Titanio a 6 g/l de 2.93 g con un 40.6 %. Indicando que la aplicación de la nanopartícula Óxido de Zinc tiene efectos positivos en frijol (Figura 14)

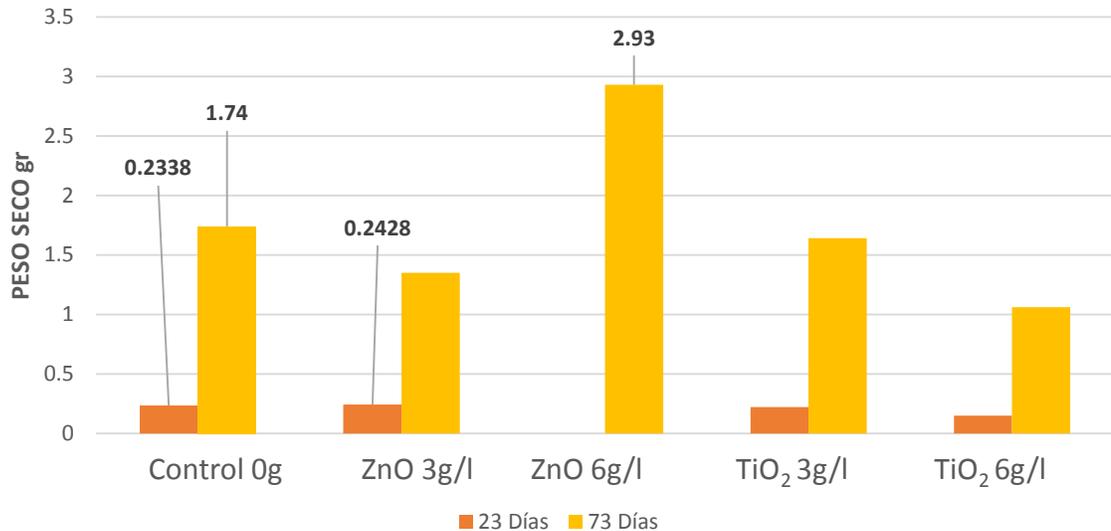


Figura 14. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre el peso seco en parte aérea de frijol, *Phaseolus vulgaris* L. a 23 y 73 días de desarrollo.

Lin *et al* (2010) muestran que la citotoxicidad de nanopartículas se encuentran tanto en el nivel de penetración de la membrana y el aumento de interrupción como la densidad de carga de las nanopartículas, pero de diferentes maneras dependiendo del tipo de nanopartícula.

Los resultados son similares a los obtenidos por Focanici *et al.* (2010) que encontraron cambios citogenéticos con nanopartículas de ferrita de Zn en comparación con nanopartículas de magnetita, manteniendo mayor toxicidad en pequeñas concentraciones de óxidos de Zn mientras con magnetita se tiene una disminución del índice mitótico mayor en el caso de las nanopartículas de ferrita Zn (32%) que para los nanopartículas de magnetita (20%).

Los resultados coinciden con lo expuesto por Zhu *et al.* (2008) que utilizaron un medio con nanopartículas de magnetita acuosa (Fe_3O_4) las cuales indican que pueden absorberse, trasladar y acumular en los tejidos de la planta. Por lo que indican que las plantas, como un componente importante de los sistemas ambientales y ecológicos está más propenso en el transporte y vías de exposición a las nanopartículas en el medio ambiente.

Longitud de Parte Aérea de Girasol y Frijol

Los resultados de la longitud de parte aérea de girasol muestra que el control midió 8.5 cm superado por la aplicación de Hematita a 3 g/l en un 41.2% ya que éste último tuvo 12 cm de longitud a los 23 días de desarrollo, mientras a los 73 días el control presento 86 cm y fue superada por la Magnetita a 6 g/l. en un 26%. Indicando variación a mayor desarrollo de esta variable en plantas de girasol con diferentes nanopartículas (Fig. 15)

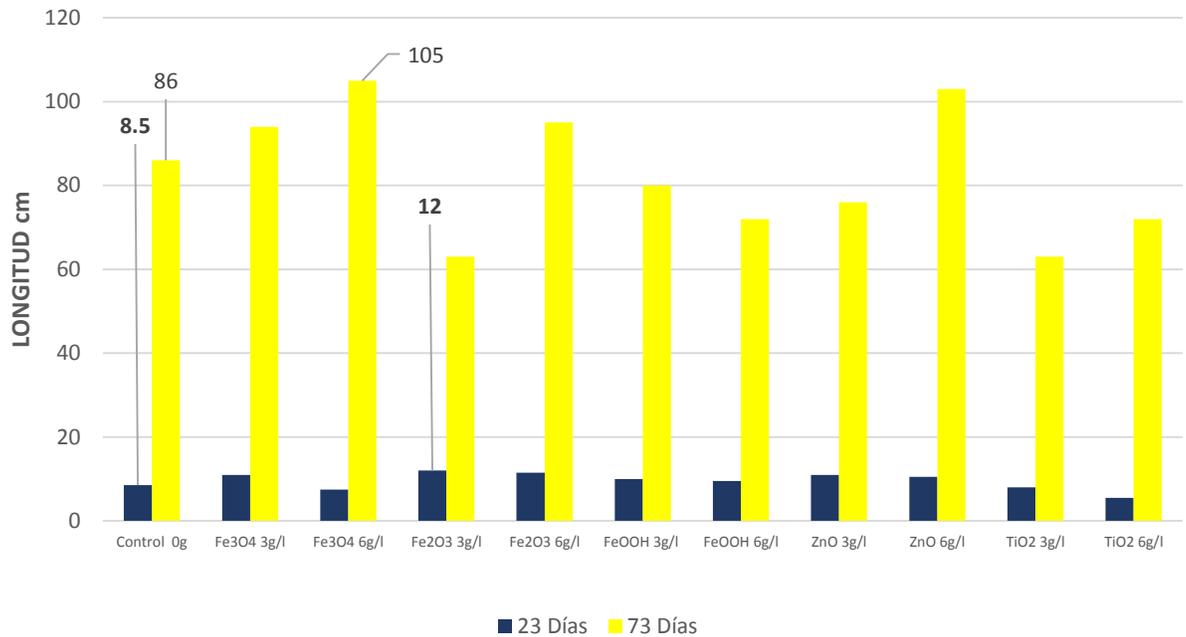


Figura 15. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre la longitud en parte aérea de girasol, *Helianthus annuus L.* a 23 y 73 días de desarrollo.

Con el frijol observamos una longitud de la parte aérea a los 23 días de desarrollo, que el control midió 7.3 cm y fue superado con un 14,1 % por la aplicación de la nanopartícula de Dióxido de Titanio a 3 g/l con 8.5 cm de longitud, mientras que a los 73 días el control presento una longitud de 22.5 cm y fue superada con 2.1% por la aplicación del Óxido de Zinc a 6 g/l con 23 cm (Figura 10)

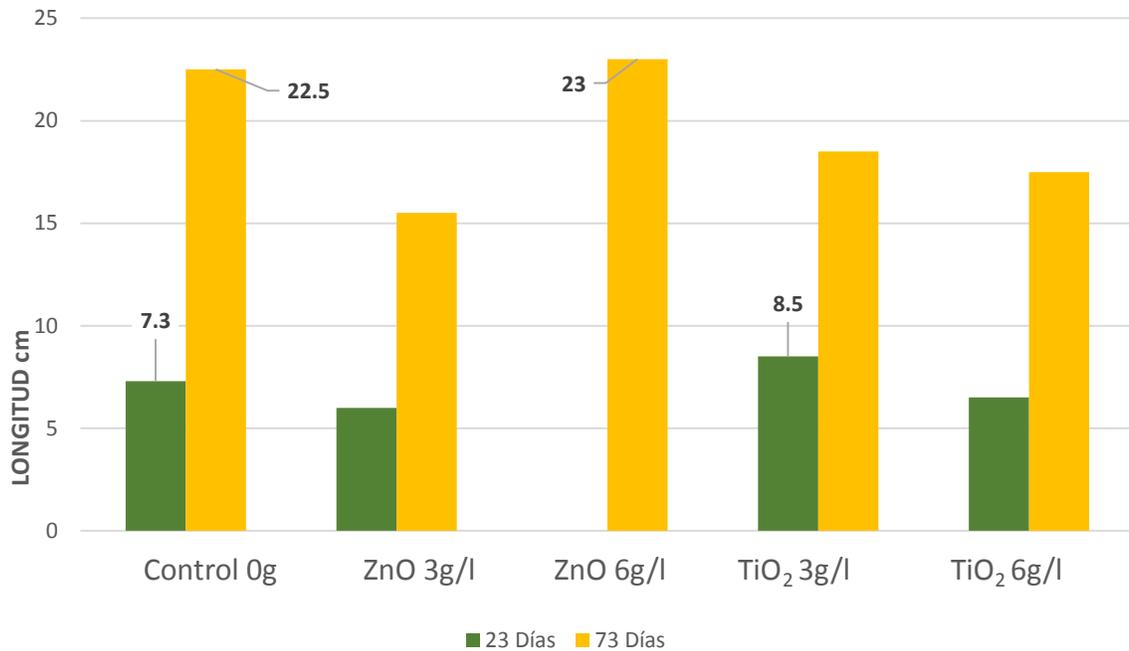


Figura 16. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones sobre la longitud en parte aérea de frijol, *Phaseolus vulgaris* L. a 23 y 73 días de desarrollo.

Soto *et al* (2005) mencionan que una gama de materiales de nanopartículas de Ag, NiO y TiO₂ en nanotubos de carbono de paredes múltiples y amianto crisotilo se han caracterizado por microscopía electrónica de transmisión y exhibieron alguna citotoxicidad a concentraciones de 5 mg L⁻¹ para una línea celular de macrófagos murinos como un modelo de respuesta de las vías respiratorias exceptuando el TiO₂.

En una investigación realizada por Ursache-Oprisan *et al* (2011) encontraron que el contenido de clorofila en plántulas de girasol suministradas a bajas concentraciones de nanopartículas magnéticas de hierro y óxidos de hierro-cobalto en forma coloidales administradas en el medio de cultivo, durante

sus primeras etapas ontogénicas, se puede tener una posible base como nueva herramienta biotecnológica para controlar el crecimiento de las plantas. Lo que nos indica que en condiciones óptimas se puede beneficiar a la planta de girasol.

Micromorfología

Área de vasos de xilema en raíz de girasol y frijol

En la Figura 17 se observa que el control presentó ($3786.2 \mu\text{m}^2$) una área de vasos de xilema en raíz de girasol a 23 días de desarrollo, mayor en comparación del resto de las nanopartículas administradas a plantas de girasol, dejando en claro que las nanopartículas pueden reducir el tamaño del área vasos en la planta joven.

Mientras que las plantas de 73 días se observa claramente que en casi todos los casos las nanopartículas fueron las que presentaron menor área de vasos ya que en el control tuvo un área de $4456.58 \mu\text{m}^2$ y solo fue superado con la nanopartícula Hematita 6g/l dando un promedio de vasos de $8323.51 \mu\text{m}^2$, observándose que esta nanopartícula incrementó el área de vasos de xilema pero hasta planta adulta.

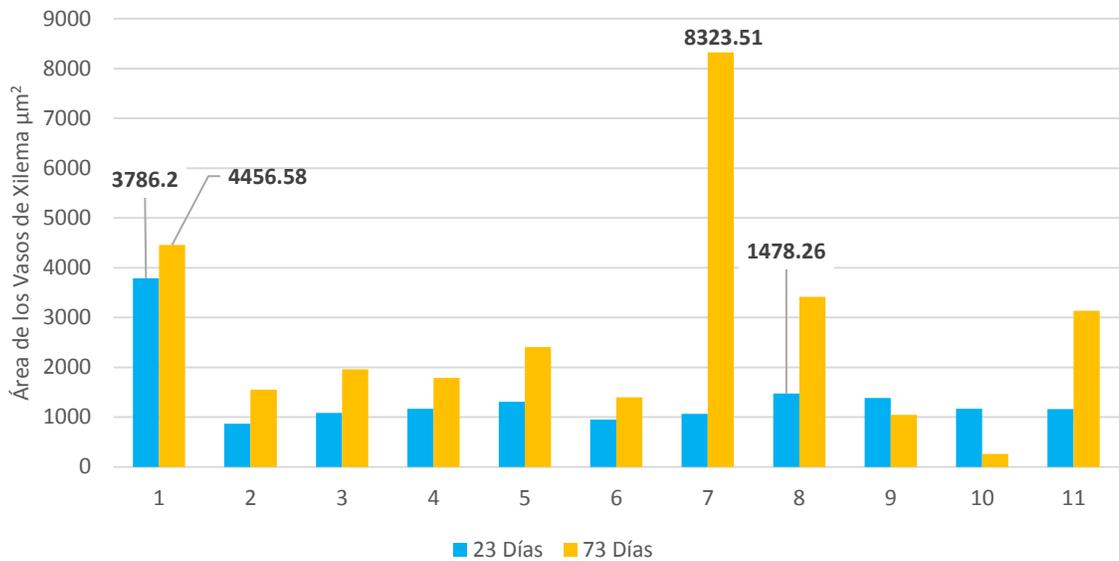


Figura 17. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área de vasos de xilema en la raíz de girasol, *Heliantus annuus L* de plantas a 23 y 73 días de emergencia. 1) Control 0g. 2) TiO₂ 3g/l. 3) TiO₂ 6g/l. 4) FeOOH 3g/l. 5) FeOOH 6g/l. 6) Fe₂O₃ 3g/l. 7) Fe₂O₃ 6g/l. 8) Fe₃O₄ 3g/l. 9) Fe₃O₄ 6g/l. 10) ZnO 3g/l. 11) ZnO 6g/l

En frijol se encontró que al aplicar Dióxido de Titanio se produjo mayor área de vasos de xilema en raíz 1344.69 μm² ya que supero al control el cual presento 791.40 μm² ubicándose por debajo de todos los tratamientos, observando que la aplicación de las nanopartículas a plántulas de frijol de 23 días de desarrollo, generaron vasos de xilema más grande en comparación al control, mientras que a los 73 días se encontró una diferencia notoria en el área de vasos de xilema, siendo el Óxido de Zinc a 3 g/l con 2355.98 μm² el que supera al control (1646.274 μm²), dejando ver una respuesta positiva en esta variable (Figura 18).

Xingmao *et al.* (2010), menciona que para la mayoría de las nanopartículas son necesarias concentraciones altas para ocasionar un efecto

en las plantas, muchos trabajos no muestran resultados significativos en presencia de nanopartículas, pero los efectos son más notorios cuando estas nanopartículas son acompañadas por un estabilizador.

Focanici *et al* (2010) indican en sus datos que la influencia en las suspensiones de nanopartículas magnéticas sobre las células en diferentes cultivos presentan una tendencia general de inhibición de la proliferación de plantas.

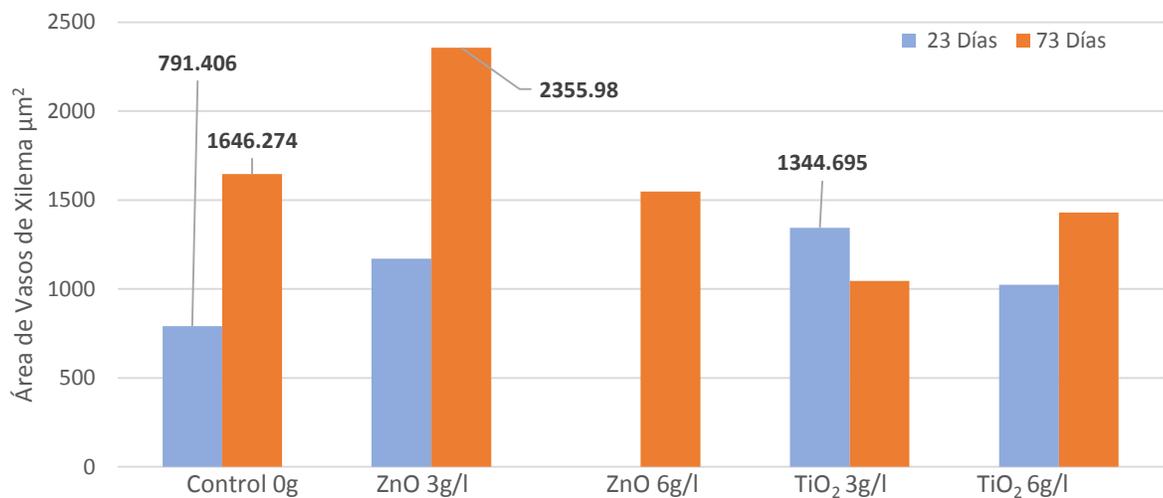


Figura 18. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área de vasos de xilema en la raíz de frijol, *Phaseolus vulgaris* L de plantas a 23 y 73 días de emergencia.

Resultados obtenidos por Lin y Xing (2007) indican que las nanopartículas después de penetrar las cubiertas de las semillas, pueden ponerse en contacto directamente con los tejidos, Por lo que la elongación de la raíz de especies de plantas sensibles tendría una respuesta dependiente de la dosis. Las raíces son el primer tejido que enfrentan las concentraciones excesivas de los contaminantes, los síntomas tóxicos aparecer más en los

brotos de las raíces, que podría crecer hasta un cierto grado, aunque la elongación de las raíces fue detenido en presencia de nano - Zn y nano - ZnO en agua.

Seeger *et al* (2009) en un estudio con árboles de sauce con nanopartículas de TiO₂ tuvieron pocos efectos en el incremento del uso de agua y transpiración, de igual forma Doshi *et al* (2008) trabajando con nanopartículas de aluminio no encontraron un efecto significativo en frijol, en estudios realizados en columnas de arena con concentraciones de hasta 17 mg L⁻¹

Datos morfológicos obtenidos por Soto *et al* (2005) dentro de una gama de materiales de nanopartículas Ag, NiO , TiO₂ , los nanotubos de carbono de paredes múltiples y el amianto crisotilo han sido caracterizado por microscopía electrónica de transmisión . Todos menos el TiO₂ produjeron citotoxicidad a concentraciones de 5 mg L⁻¹ para una línea celular de macrófagos murinos como un modelo de respuesta respiratoria.

Los datos obtenidos en esta investigación difiere de lo mencionado por Krug y Wick (2011) quienes demuestran que existen efectos tóxicos con la nanopartícula TiO₂, esto debido a que las concentraciones de ensayo oscilan 1 a 1000 mg mL⁻¹, lo que tiene que ser comparado con valores como 1 mg m⁻³ que es la cantidad total de material ultra fino en el medio ambiente. Por lo tanto estos estudios abordan situaciones donde los organismos podrían ser

expuestos a bajas y altas dosis de nanopartículas. Sin embargo en un futuro la cantidad de nanopartículas puede sufrir un aumento considerable.

Área de vasos de xilema de tallo en girasol y frijol.

En el área de vasos de xilema de tallo de girasol a 23 días de desarrollo se puede observar la mayor proporción de área de vasos, con la nanopartícula Magnetita a 3 g/l (96818.84 μm^2), sin embargo todas las nanopartículas administradas a las plantas de girasol superaron al control (18863.55 μm^2), a diferencia de las plantas con 73 días de desarrollo el control superó a todos los tratamientos con un área de 1385831.49 μm^2 (Figura 19).

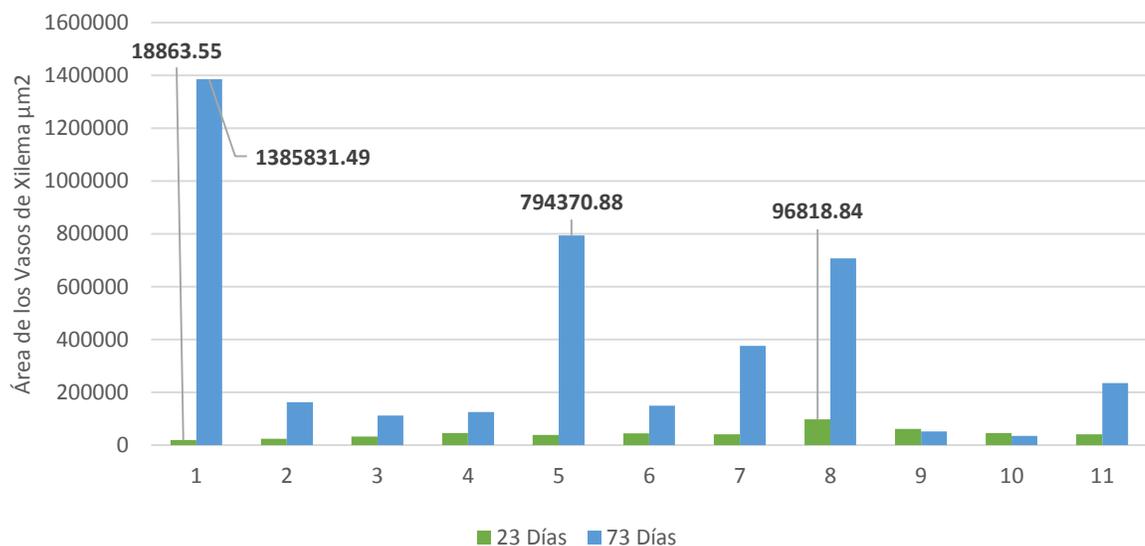


Figura 19. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área de vasos de xilema en tallo de girasol, *Heliantus annuus L* de plantas a 23 y 73 días de emergencia. 1) Control 0g. 2) TiO₂ 3g/l. 3) TiO₂ 6g/l. 4) FeOOH 3g/l. 5) FeOOH 6g/l. 6) Fe₂O₃ 3g/l. 7) Fe₂O₃ 6g/l. 8) Fe₃O₄ 3g/l. 9) Fe₃O₄ 6g/l. 10) ZnO 3g/l. 11) ZnO 6g/l

En el área de vasos de xilema en tallo en plántulas de frijol, se encontró, que el control fue superior con un área de 1751.222 μm^2 a la

aplicación del resto de las nanopartículas a los 23 días de desarrollo (Figura 20). Sin embargo a los 73 días presentaron un comportamiento diferente ya que el control presento menor área de vasos de xilema con 967.924 μm^2 siendo superado por el resto de las nanopartículas aplicadas en plantas de frijol, observándose menor área de vasos de xilema con las nanopartículas en plantas jóvenes, siendo mayor en plantas adultas.

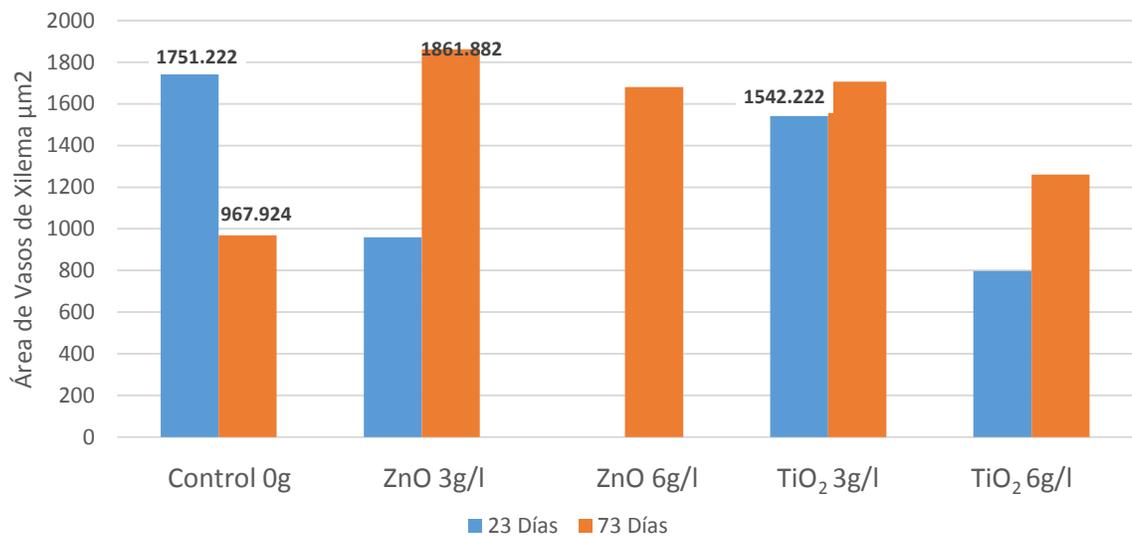


Figura 20. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área de vasos de xilema en tallo de frijol, *Phaseolus vulgaris* L de plantas a 23 y 73 días de emergencia.

Oparka (2004) encontró que las plantas de calabaza (*Cucurbita maxima*), que se cultiva en un medio que contiene nanopartícula magnetita acuosa (Fe_3O_4), pueden absorber, trasladar y acumular la partículas en los tejidos de la planta. Se observó que las nanopartículas alcanzan el cilindro vascular, se mueven utilizando la corriente de transpiración en el xilema y se

distribuyen por la parte aérea de las plantas en menos de 24 horas. Se detectó una fuerte acumulación de nanopartículas en tricomas de hojas de trigo, lo que sugiere una posible vía de excreción/detoxificación(Cifuentes *et al.*, 2010) estos resultados coinciden con los obtenidos en girasol y frijol donde las nanopartículas aumentaron el área de vasos de xilema.

Joško and Oleszczuk (2013), mencionan que el efecto de las nanopartículas sobre las plantas está determinada por numerosos factores que operan dentro del sistema de nanopartículas-suelo-planta estos resultados revelaron diferencias considerables en los niveles de fitotoxicidad observados en los experimentos hidropónicos y los obtenidos en cultivos en suelo.

Área del haz vascular en raíz de girasol y frijol

La Figura 21 se muestra que el área del haz vascular en raíz de girasol el control presentó $1492.93 \mu\text{m}^2$ por encima de los demás tratamientos, dejando ver que se tiene una mayor cantidad de vasos de xilema y floema, a 23 días de desarrollo, de igual forma a los 73 días el control con un área de $3169.05 \mu\text{m}^2$ supera a los tratamientos restantes.

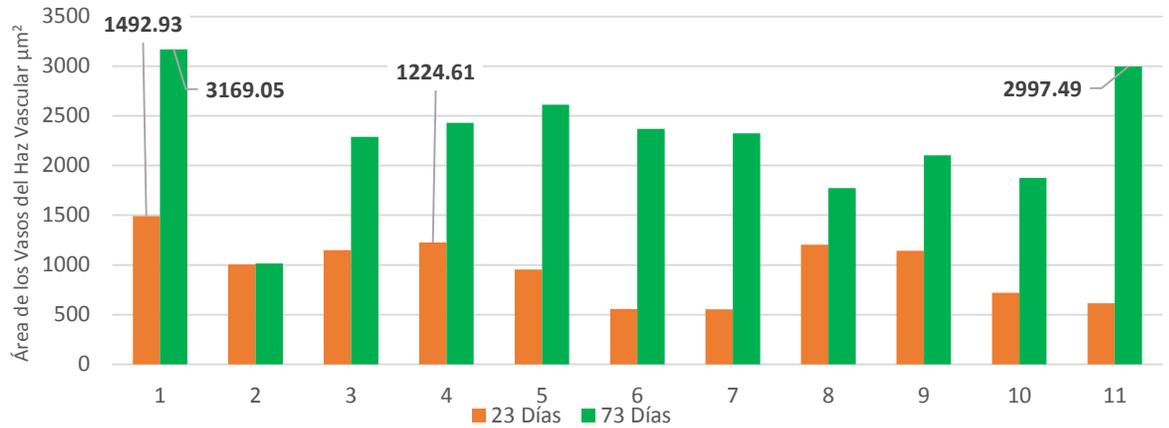


Figura 21. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el haz vascular en raíz de girasol, *Helianthus annuus L* de plantas a 23 y 73 días de emergencia. 1) Control 0g. 2) TiO₂ 3g/l. 3) TiO₂ 6g/l. 4) FeOOH 3g/l. 5) FeOOH 6g/l. 6) Fe₂O₃ 3g/l. 7) Fe₂O₃ 6g/l. 8) Fe₃O₄ 3g/l. 9) Fe₃O₄ 6g/l. 10) ZnO 3g/l. 11) ZnO 6g/l.

En el área de haz vascular en raíz de frijol el Control fue el más altos con 59143.25 µm², indicando que la aplicación de nanopartículas genera un efecto toxicológico inhibiendo la generación de vasos a los 23 días. A los 73 días el control con (125535.288 µm²) está por debajo en área del haz vascular de raíz al Óxido de Zinc a 6 g/l (153321.624 µm²). Faiyue *et al* (2010) menciona que en promedio la exodermis evita el flujo apoplástico de solutos y agua al cilindro central. Sin embargo la formación de las raíces secundarias puede permitir el paso de las nanopartículas y ser conducidas a la planta a través del xilema (Figura 22).

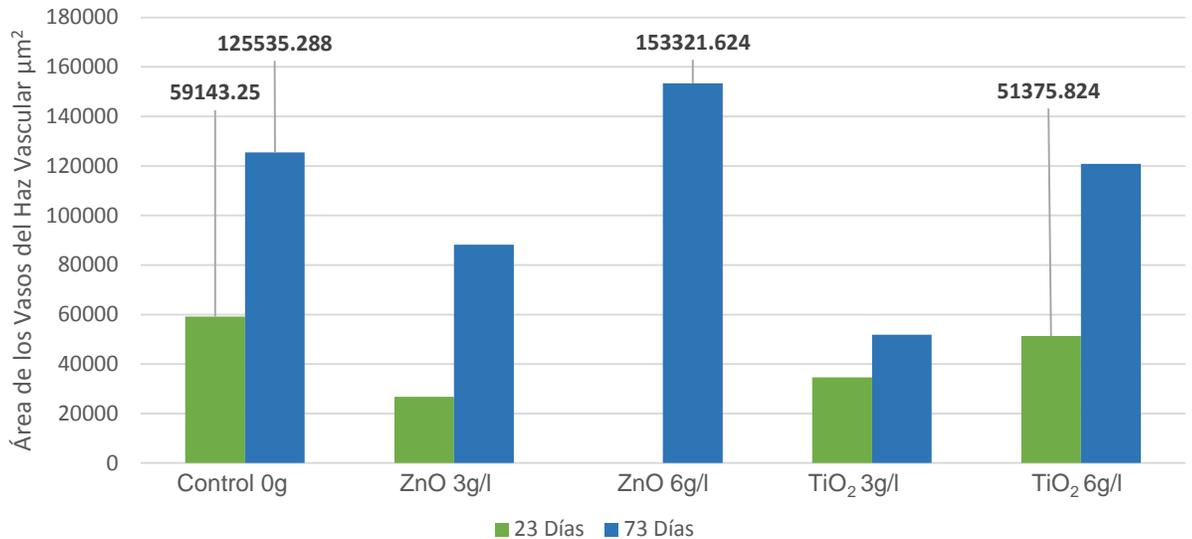


Figura 22. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en el área del haz vascular de raíz de frijol, *Phaseolus vulgaris* L de plantas a 23 y 73 días de emergencia.

Teniendo en cuenta que las nanopartículas pueden penetrar en zonas libres de la cutícula, como el estigma de las flores y estomas. Algunas aperturas de estomas pueden llegar a tener 10 μm de diámetro en plantas mesófilas, como por ejemplo *Vicia faba* L. (haba) expuesto a luz alta. Se ha demostrado la penetración de nanopartículas a través de las estomas por exposición vía aérea a nanopartículas (Birbaum, *et al.*, 2010)

Asli y Neumann (2009), menciona que las suspensiones coloidales de dióxido de titanio con tamaños nanométricos y una arcilla natural causaron que el tamaño de poros de la pared celular de raíces del maíz disminuyera de 66 nm a aproximadamente 3 nm y hubo inhibición de la conductividad hidráulica, causando que la tasa de crecimiento fuera inhibido aproximadamente en un 10%, Xu *et al* (2005) mencionan que antraciclinas con hierro tales como doxorubicina son agentes antitumorales ampliamente usados, una limitación

importante para su uso es el desarrollo de cardiomiopatía en altas dosis acumulativas. Este efecto secundario adverso grave puede ser debido a las interacciones con el metabolismo del hierro celular, debido a la carga de hierro promueve el daño celular inducida por antraciclina. Por otro lado, la cardiotoxicidad inducida por antraciclina se alivia significativamente por quelantes de hierro.

Grosor de epidermis del tallo en girasol y frijol

En los valores presentados en la Figura 23 se tienen diferencias entre tratamientos, siendo el control el que superó a todos los tratamientos de nanopartículas aplicadas a las plántulas de girasol en grosor de epidermis en tallo con $14.77 \mu\text{m}$, seguido del Dióxido de Titanio a 3 g/l con $14.31 \mu\text{m}$ por encima de los valores de las restantes nanopartículas, siendo el Óxido de Zinc el valor más bajo de todos los tratamientos con $8.06 \mu\text{m}$ indicando una epidermis muy delgada esto a los 23 días de germinación. A los 73 días se ubica un cambio a los resultados anteriores se puede apreciar claramente la diferencia en cuanto a grosor de epidermis, en el cual la ferrihidrita a concentración de 3g/l con $195.92 \mu\text{m}$ supero al testigo notablemente contrario de la ferrihidrita a concentración de 6g/l la cual fue más baja inclusive a los demás tratamientos lo que sugiere que las nanopartículas en sus diferentes concentraciones fueron aumentando en la producción grosor de epidermis esto dependiendo la cantidad utilizada de nanopartícula.

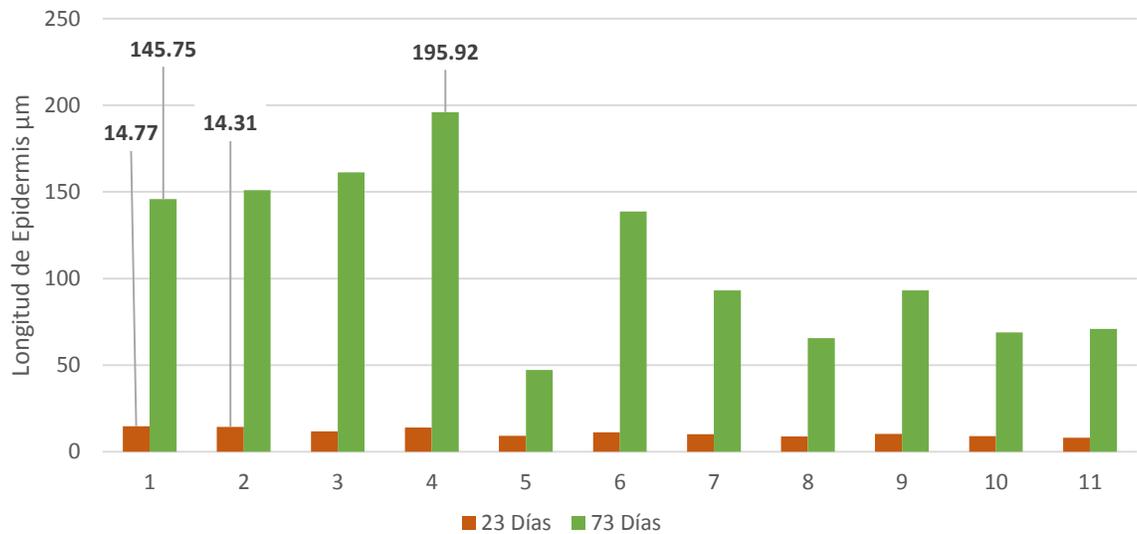


Figura 23. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en grosor de epidermis en tallo de girasol, *Heliantus annuus L* de plantas a 23 y 73 días de emergencia. 1) Control 0g. 2) TiO₂ 3g/l. 3) TiO₂ 6g/l. 4) FeOOH 3g/l. 5) FeOOH 6g/l. 6) Fe₂O₃ 3g/l. 7) Fe₂O₃ 6g/l. 8) Fe₃O₄ 3g/l. 9) Fe₃O₄ 6g/l. 10) ZnO 3g/l. 11) ZnO 6g/l.

En el frijol se encuentra una ligera similitud del control de 17.216 μm con el Óxido de Zinc a 3 g/l con 17.704 μm mientras los demás tratamientos con nanopartículas se encuentran con mayor grado de toxicidad ya que el grosor de la epidermis es menor a la del control, esto puede ocasionar problemas adyacentes en el desarrollo de la planta de frijol ya que la plántula se encuentra entre los días más vulnerables de su desarrollo en los días 23, en los días 73 se encuentran resultados diferentes, siendo el control con 21.432 μm, superado por el Dióxido de Titanio a 3 g/l con 22.988 μm (Figura 24). Cifuentes *et al* (2010) menciona que en un depósito dentro del cilindro central de raíces situado diametralmente opuesto a las raíces tratadas sugieren que las nanopartículas se mueven no sólo hacia arriba a través de los vasos del xilema siguientes a la transpiración transmitir, sino también hacia abajo, probablemente a través del

floema y el uso de la presión de la fuente sumidero gradiente se obtiene un claro resultado de la toxicidad implicada en la epidermis del frijol.

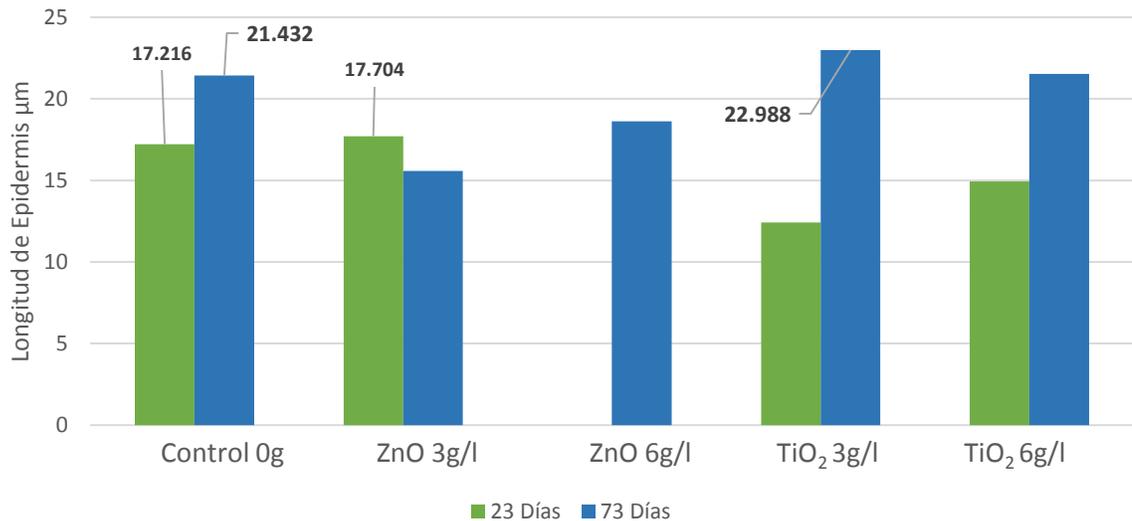


Figura 24. Efecto de la aplicación de nanopartículas a dos concentraciones en grosor de epidermis en tallo de frijol, *Phaseolus vulgaris* L de plantas a 23 y73 días de emergencia.

En estudios previos se expusieron plantas jóvenes de maíz durante 20 minutos a 400 mg de aerosol con nanopartículas de CeO₂ (37 nm). Con el trabajo se concluyó que la interacción entre las nanopartículas es independiente al estado de las estomas, ya sean abiertas o cerradas, demostrando que cada nanopartícula a concentraciones diferentes tienen efectos diversos (Birbaum, *et al.*, 2010).

Lin and Xing (2008), demostraron que las nanopartículas de óxido de zinc administradas a *Lolium perenne* L. (ryegrass) en concentraciones de 8-1,000 mg L⁻¹ se translocaron en la endodermis y células de la planta, además

provocó daño severo en la raíz, provocando gran inhibición del crecimiento de la planta lo que coincide con los resultados obtenidos (Figura 25).

Análisis de imágenes de girasol a 23 días.

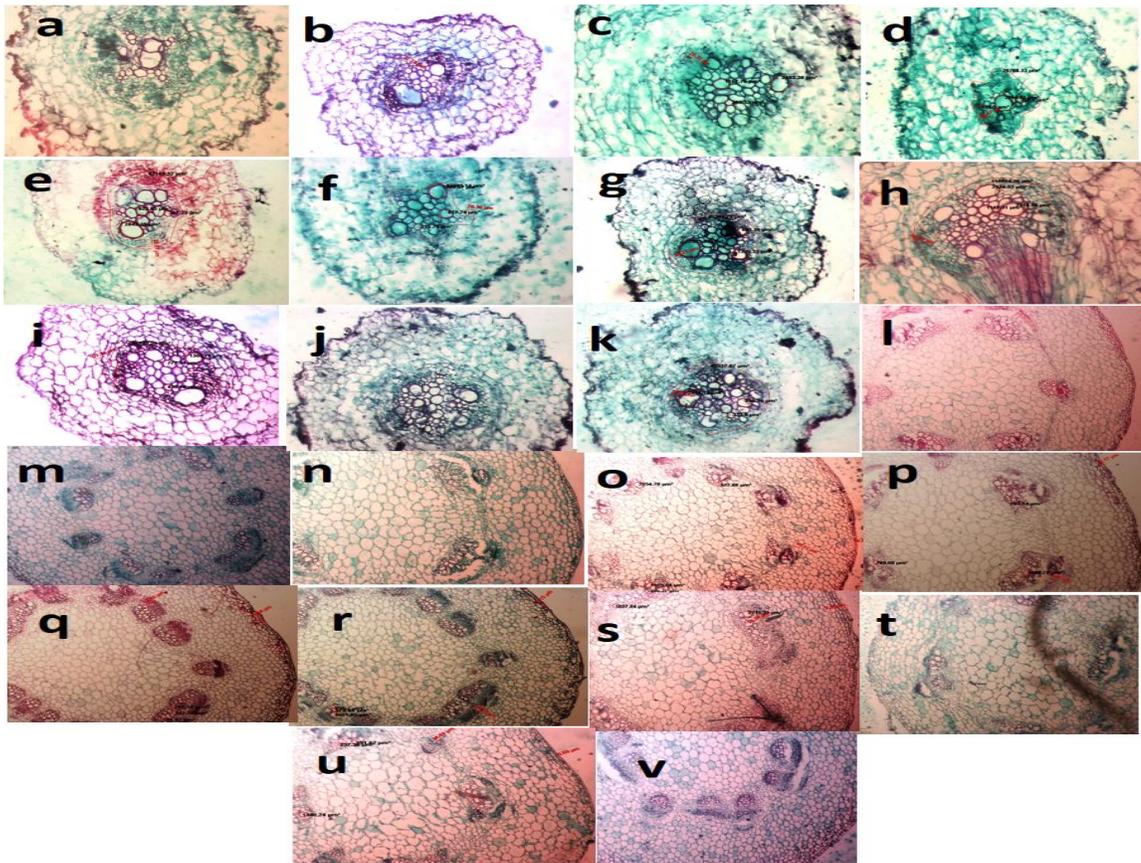


Figura 25 Cortes longitudinales raíz a 5X y tallo a 5X de Girasol a 23 días de germinación. a) Control Raíz. b) Dióxido de Titanio 3 g/l Raíz. c) Dióxido de Titanio 6 g/l Raíz. d) Ferrihidrita 3 g/l Raíz. e) Ferrihidrita 6 g/l Raíz. f) Hematita 3 g/l Raíz. g) Hematita 6 g/l Raíz. h) Magnetita 3 g/l Raíz. i) Magnetita 6 g/l Raíz. j) Óxido de Zinc 3g/l Raíz. k) Óxido de Zinc 6 g/l Raíz 10X. l) Control Tallo 5X. m) Dióxido de Titanio 3 g/l Tallo. n) Dióxido de Titanio 6 g/l Tallo. o) Ferrihidrita 3 g/l Tallo. p) Ferrihidrita 6 g/l Tallo. q) Hematita 3 g/l Tallo. r) Hematita 6 g/l tallo. s) Magnetita 3 g/l Tallo. t) Magnetita 6 g/l Tallo. u) Óxido de Zinc 3 g/l Tallo. v) Óxido de Zinc 6 g/l Tallo.

Análisis de imágenes de girasol a 73 días

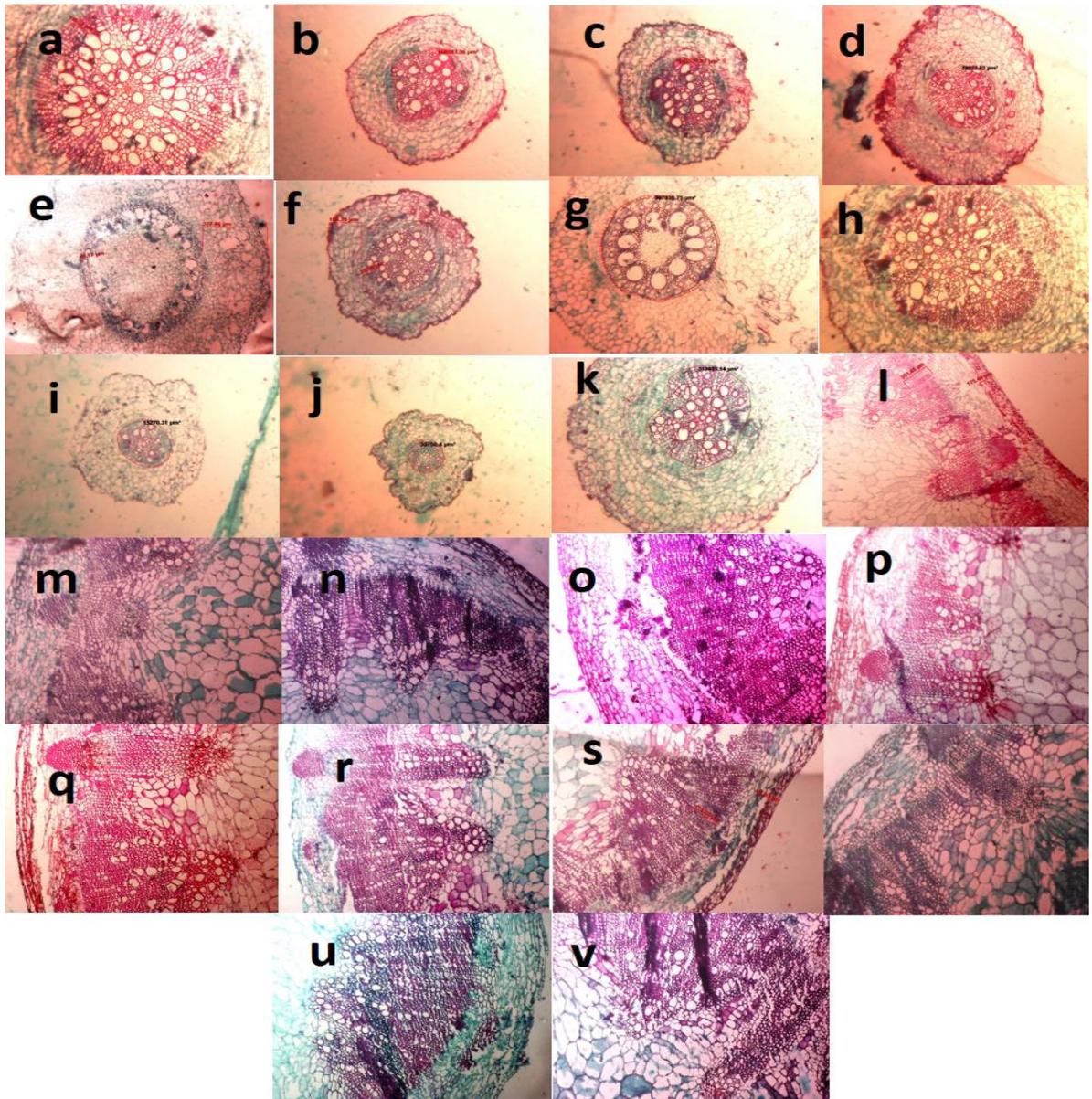


Figura 26. Cortes longitudinales de raíz a 10X y tallo a 5X de Girasol a 73 días. a) Control Raíz. b) Dióxido de Titanio 3 g/l Raíz. c) Dióxido de Titanio 6 g/l Raíz. d) Ferrihidrita 3 g/l Raíz. e) Ferrihidrita 6 g/l Raíz. f) Hematita 3 g/l Raíz. g) Hematita 6 g/l Raíz. h) Magnetita 3 g/l Raíz. i) Magnetita 6 g/l Raíz. j) Óxido de Zinc 3g/l Raíz. k) Óxido de Zinc 6 g/l Raíz 10X. l). Control Tallo 5X. m) Dióxido de Titanio 3 g/l Tallo. n) Dióxido de Titanio 6 g/l Tallo. o) Ferrihidrita 3 g/l Tallo. p) Ferrihidrita 6 g/l Tallo. q) Hematita 3 g/l Tallo. r) Hematita 6 g/l tallo. s) Magnetita 3 g/l Tallo. t) Magnetita 6 g/l Tallo. u) Óxido de Zinc 3 g/l Tallo. v) Óxido de Zinc 6 g/l Tallo.

Análisis de imágenes de frijol a 23 y 73 días

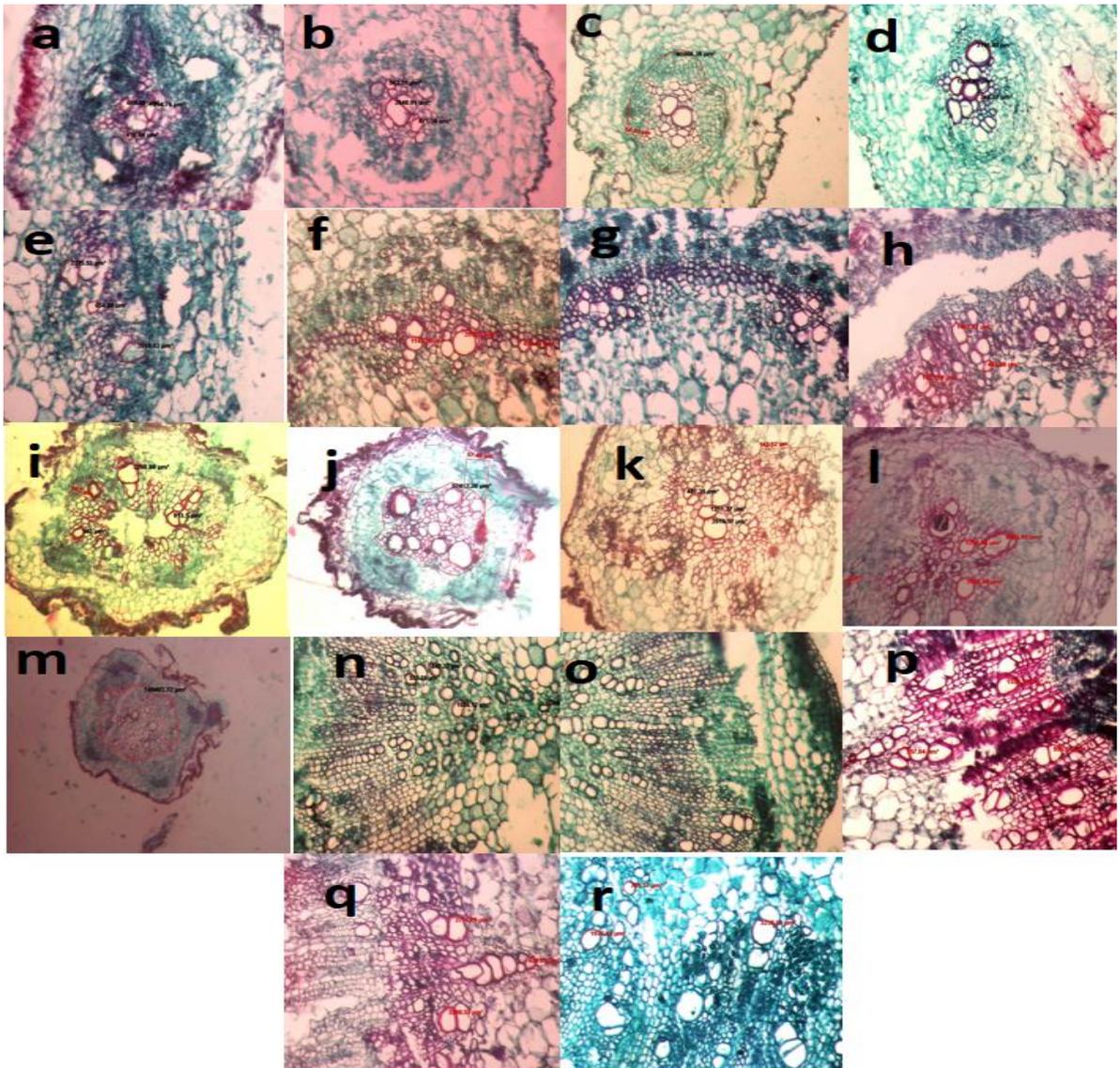


Figura 27. Cortes longitudinales de raíz y tallo de frijol a 23 días de desarrollo. a) Control Raíz. b) Dióxido de Titanio 3 g/l Raíz. c) Dióxido de Titanio 6 g/l Raíz. d) Óxido de Zinc 3 g/l Raíz. e) Control Tallo. f) Dióxido de Titanio 3 g/l Tallo. g) Dióxido de Titanio 6 g/l Tallo. h) Óxido de Zinc 3 g/l Tallo. Cortes longitudinales de raíz y tallo a 10x de frijol a 73 días de germinación. i) Control Raíz. j) Dióxido de Titanio 3 g/l Raíz. k) Dióxido de Titanio 6 g/l Raíz. l) Óxido de Zinc 3 g/l Raíz. m) Óxido de Zinc 6 g/l Raíz. n) Control Tallo. o) Dióxido de Titanio 3 g/l Tallo 2.5X. p) Dióxido de Titanio 6 g/l Tallo. q) Óxido de Zinc 3 g/l Tallo. r) Óxido de Zinc 6 g/l Tallo.

CONCLUSIONES

- 1.- Los resultados en biomasa demuestran que la aplicación de nanopartículas que contienen hierro pueden inducir mayor desarrollo de plantas de girasol y frijol.
- 2.- Se observaron modificaciones en la micromorfología de tejidos de conducción con nanopartículas de magnetita y ferihidrita en plantas de girasol y frijol
- 3.- Las modificaciones micromorfológicas con aplicación de nanopartículas se expresaron hasta plantas adultas de girasol y frijol
- 4.- Las nanopartículas tiene efectos diferentes tanto en biomasa como micromorfológicas dependiendo de la especie y desarrollo de las plantas girasol y frijol
- 5.- Las nanopartículas en el cultivo de Girasol provocó una distribución de los vasos de xilema en eustela (círculo), cuando lo normal en este cultivo debe ser en estela (cruz), sobre todo en planta adulta.

LITERATURA CITADA

- Aguado-Santacruz G. A., B. Moreno-Gómez, B. Jiménez-Francisco, E. García-Moya y R. E. Peciado-Ortiz. 2012. Impact of the microbial siderophores and phytosiderophores on the iron assimilation by plants: synthesis. *Rev. Fitotecnia. Mex.* vol.35 no.1 Chapingo.
- Alexiou C., D. Diehl, P. Henninger, H. Iro, R. Rockelein, W. Schmidt y H. Weber. 2006. A high field gradient magnet for magnetic drug targeting. *IEEE Trans. Applied Supercond*; 16(2): 1527-1530.
- Amalio S. P. 2011. Guía específica de trabajo sobre la nanotecnología para la alimentación y el consumo. *Rev. INVESTIGA I+D+i.* 10
- Asli, S. y P. M. Neumann. 2009. Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide NPs can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant Cell Environ* 32: 577–584.
- Birbaum, K. Brogioli, R. Schellenberg, M. Martinola, E. Stark, W. J. and Limbach K. L. 2010. No evidence for cerium dioxide NP translocation in maize plants. *Environmental Science & Technology.* 44 (22): 8718–8723.
- Cañas, J. E. Long, M. Nations, S, Vadan, R. Dai, L. Luo, M. 2008. Effects of functionalized and nonfunctionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 27 (9): 1922–1931.

- Cardenas, C.R. 2012. Evaluación de las propiedades físicas y fotocatalíticas de cemento adicionado con nanopartículas de dióxido de titanio. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Minas Medellín, Colombia. 118 pp.
- Carvajal, M., M. J. Frutos, J. L. Giménez, C. F. Alcazar y F. Martinez-Sanchez. 1992. Aporte foliar de Titanio a plantas de pimiento pimentonero, Influencia sobre el balance de nutrición en pericarpio de fruto. Suelo y planta 12: 532-562.
- Castro S. G. 2012. ¿Qué es el titanio? su extracción en Chiapas y Guatemala. Revista, El escarabajo (1) .1- 11.
- Cifuentes, Z., L. Custardoy, J. M. de la Fuente, C. Marquina, M. R. Ibarra, D. Rubiales y A. Pérez de Luque. 2011. Absorción y traslocación a la parte aérea de nanopartículas magnéticas a través de la raíz de diferentes cultivos. Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica, Centro Alameda del Obispo, Área de Mejora y Biotecnología. 38 pp.
- Corredor, E., P. S. Testillano, M.J. Coronado, P. González, R. Fernández, C. Marquina, M. R. Ibarra, J. M de la Fuente, D. Rubiales, A. Pérez y M. C, Risueño. 2009. NP penetration and transport in living pumpkin plants: in situ subcellular identification. BMC Plant Biol. 9. 1-45 pp.
- Diaz del Castillo R. F. 2012. Introducción a los Nanomateriales. Lecturas de Ingeniería 20. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad

- Nacional Autónoma de México. Cuautitlán Izcalli, Estado de México. 79 pp.
- Dietz, K-J y S. Herth, S. 2011. Plant nanotoxicology. Trends in Plant Science. 16 (11): 582-589.
- Doshi, R. Braida, W. Christodoulatos, C. Wazne, M. and O'Connor, G. 2008. Nano-aluminum: transport through sand columns and environmental effects on plants and soil communities. Environmental Research. 106 (3): 296–303.
- Fages S. E. 2012. Investigación de fibras de polipropileno aditivadas con nanopartículas de plata para la mejora de propiedades bioactivas en el sector textil. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de Valencia. Valencia, España. 399 pp.
- Faiyue, B. Mohammed, J. Al-Azzawi. Timothy J. 2010. The role of lateral roots in bypass flow in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Cell Environ. 33 (5): 702–716.
- Fernández-López, M. B. 2009. Ferritinas Naturales y Sintéticas. Implicaciones Nanobiomédicas. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, Departamento de Química Inorgánica. Granada España. 45 pp.
- Ferraris. N. G. 2011. Micronutrientes en cultivos extensivos. Necesidad actual o tecnología para el futuro? In F. O. García. & A. A. Correndo. Eds. Simposio fertilidad. 19: 121-133
- Financiera Rural, 2010, Monografía de la Semilla de Girasol. <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Mon>

ografias/Monograf%C3%ADa%20Semilla%20de%20girasol%20(mayo10)
.pdf (Abril 2010)

Flores. R. P., V. O. Avendaño., A. J. S. Hernández. 2010. El Zinc (Zn) en las plantas. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Oaxaca. México. 5pp

Focacini E., G. Capraru., D. Creanga. 2010. Comparative Cytogenetic Study on the Toxicity of Magnetite and Zinc Ferrite Nanoparticles in Sunflower Root Cells. Rev. AIP Conference Proceedings 7: 131-345.

Foladori G. y N. Invernizzi. 2008. Nanotecnologías en la alimentación y en la agricultura. Universidad de la República, Comisión Sectorial de Extensión y Actividades en el Medio. Montevideo, Uruguay. 116 pp.

Gardea-Torresdey J. L., E. Gomez, J. R. Peralta-Videa, J.G. Parsons, H. Troiani y M. Jose-Yacaman. 2003. Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. Langmuir; 19. 1- 61.

Grade A. H. 2007. Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: la física actual en lucha contra la enfermedad, Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat. (esp.), vol. 101, (2); 321-327.

Gutierrez C. E. 2005. Las nanopartículas. Pequeñas estructuras con gran potencial, ¿Por qué hay interés en estos materiales? ¿Qué aplicación tienen?. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. Contacto nuclear 1. 24-29.

Hall J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. J. Exp. Bot. 1 (11). 1-53.

- Imlau A., E. Truernit y N. Sauer. 1999. Cell-to-cell and long distance trafficking of the green fluorescent protein in the phloem and symplastic unloading of the protein into sink tissues. *Plant Cell* 11, 309–322.
- IRSLL. 2001. Instituto Riojano de Salud Laboral Logroño. La Seguridad y Salud en la Exposición a Nanopartículas. Logroño Impreso en España - Printed in Spain. *Med. segur. trab.* vol. 59. 1-50.
- Jósko, I. and Oleszczuk, P. Influence of soil type and environmental conditions on ZnO, TiO₂ and Ni nanoparticles phytotoxicity. *Chemosphere*. 92 (1): 91-99.
- Karl-Josef. D. y S. Herth. 2011. Plant nanotoxicology. *Trends in Plant Science*. 16 (11): 582-589.
- Krug H.F. y Wick, P. 2011. Nanotoxicology: an interdisciplinary challenge. *Angew. Chem. Int. Ed.* 50. 1260-1278.
- Kumari, M., A. Mukherjee y N. Chandrasekaran. 2009. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Sci. Total Environ* 42, 5243–5246.
- Lee W-M., J. L. Kwak y Y. J An. 2012. Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiates* and *Sorghum bicolor*. Media effect on phytotoxicity. *Chemosphere* 491–988.
- Lin D. y B. Xing. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environ Pollut.* Vol. 150: 243-250.

- Lin J., H. Zhang, Z. Chen y Y. Zheng. 2010. Penetration of lipid membranes by gold nanoparticles: insights into cellular uptake, cytotoxicity, and their relationship. *ACS Nano*, 4: 5421-5429.
- Lugo-Medina E., C. García-Gutiérrez y R. D. Ruelas-Ayala. 2010. Nanotecnología y nanoencapsulación de plaguicidas. *Revista Ra Ximhai*. 6(1): 63-67.
- Martinello B.S., L. Rodrigues y A. M. Bernardin. 2012. Síntesis de nanopartículas de ZnO por el proceso sol-gel. *Ceramic and Glass Materials Group, Santa Catarina Extreme South University, Criciúma, SC, Brasil*. 21-30.
- Mazo-Zuluaga J., C. A. Barrero, J. Diaz-Terán, A. Jerez, J. Restrepo y A.L. Morales. 2001. Transformación magnetita-hematita inducida térmicamente. *Revista colombiana de fisica*, Vol. 33, No. 2. 230-233.
- Navarro E., F. Piccapietra, B. Wagner, F. Marconi, R. Kaegi y N. Odzak. 2008. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environ Sci Technol* 20: 42-64.
- Oparka K. J y S. Santa Cruz. 2000. The great escape: phloem transport and unloading of macromolecules. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 51: 323-347.
- Oparka K. J. 2004. Getting the message across: how do plant cells Exchange macromolecular complexes? *TRENDS Plant Sci*. 9: 33-41.

- Palacios F. P. 2011. Nanomateriales. Investigación en el Instituto de Ciencia de Materiales de Aragón, España. 100-109.
- Picasso G., J. Vega, R. Uzariaga y R. G. Pieer. 2012. Preparación de nanopartículas de magnetita por los métodos sol-gel y precipitación: estudio de la composición química y estructura. Revista de la Sociedad Química del Peru. 78 (3): 170-182.
- Prasad, T. N. V. K. Sudhakar, P. Sreenivasulu, Y. Latha, P. Munaswamy, V. Raja, K. Sreeprasad, T. S. Sajanalal, P. R. and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale Zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. Journal of Plant Nutrition. 35 (6): 905-927.
- Roldán M. V., A. L. Frattini, O.A. de Sanctis, y N.S. Pellegrini. 2000. Nanopartículas metálicas con formas diversas. Laboratorio de Materiales Cerámicos. En línea Vol 17. 1158-1850.
- Schreiber L. 2011. Transport barriers made of cutin, suberin and associated waxes. Trends in Plant Science. 15 (10): 1-553.
- Seeger, E. M. Baun, A. Kanstner, M. Trapp, S. 2009. Insignificant acute toxicity of TiO₂ nanoparticles to willow trees. Journal of Soils Sediments. 9 (1): 46–53.
- SIAP-SAGARPA, 2013, Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Información general y estadística para los 50 cultivos más importantes. www.siap.sagarpa.gob.mx (19 de septiembre de 2013).

- Soto K. F., A. Carrasco, T.G. Powell, L.E. Murr y K.M. Garza. 2005. Biological effects of nanoparticulate materials. *Rev. Materials Science and Engineering: C*. Vol. 26: 1421–1427
- Thorne E.T., B.M. Young, G. M. Young, J. F. Stevenson, J. M. Labavitch, M. A. Matthews y T.L. Rost. 2006. The structure of xylem vessels in grapevine (Vitaceae) and a possible passive mechanism for the systemic spread of bacterial disease. *Am. J. Bot.* (3) 497–504.
- Trujillo W.V. 2013. Preparación y caracterización de nanopartículas de magnetita funcionalizados con ácido láurico, oleico y etilendiamino tetraacético para aplicaciones biomédicas y remediación ambiental. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 162 pp.
- Ursache-Oprisan M., Focanici E., Creanga D., Caltun O. 2011. Sunflower chlorophyll levels after magnetic nanoparticle supply. *African Journal of Biotechnology*. 10 (36): 7092-7098.
- Ursache-Oprisan, M. Foca-Nici, E. Cirlescu, A. Caltun, O. and Creanga, D. 2010. Oleate Coated Magnetic Cores Based on Magnetite, Zn Ferrite and Co Ferrite Nanoparticles-Preparation, Physical Characterization and Biological Impact on *Helianthus Annuus* Photosynthesis. *AIP Conference Proceedings*. 1311: 425-430.

- Vannini C., G. Domingo y M. Bracale. 2010. Interactions between engineered NPs (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Sci. Total Environ.* 3053–3061.
- Vargas M., Y. H. Ochoa, Y. Ortegón, P. Mosquera, J. E. Rodríguez y J. Camargo. 2011. Nanopartículas de TiO₂, fase anatasa, sintetizadas por métodos químicos, ingeniería y desarrollo. *Universidad del Norte*, 29(2): 1- 172.
- Villalobos. M. y J. Antelo. 2011. A unified structural model for ferrihydrite: proton charge, electrolyte binding, and arsenate absorption. *Rev. Int. Contaminación ambiental.* 27: 139-151.
- Weiss C. y S. Diabate. 2011. A special issue on nanotoxicology. *Arch Toxicol* 705–706.
- Xingmao, M., J. Geiser-Lee, D. Yang y A. Kolmakov. 2010 Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment.* 408 (16): 3053–3061.
- Xu X., H. L. Persson., D. R. Richardson. 2005. Molecular Pharmacology of the Interaction of Anthracyclines with Iron. *Molecular Pharmacology* August. vol. 68 no. 2 261-271.
- Zalts A. 2011. Metales, ambiente y las sociedades tecnológicas: ¿Hacia dónde nos dirigimos? *Revista Química viva* 10 (2). 1- 20.
- Zhang W. 2003. Nanoscale iron particles for environmental remediation: an overview. *J Nanopart Res* 5. 1-32.

Zhu H., J. Han, J.Q. Xiao y Y. Jin. 2008. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. *J Environ Monitor*, 10: 713-717.

ANEXOS

Cuadro 1. Valores medios, del área de vasos de xilema en raíz de girasol y frijol de 23 y 73 días de desarrollo, tratadas con nanopartículas a dos concentraciones.

AVXil (μm^2) en Raíz de Girasol			AVXil (μm^2) en Raíz de Frijol		
Tratamiento	A 23 días	A 73 días	Tratamiento	A 23 días	A 73 días
Control 0g	3786.2	4456.58	Control 0g	791.4	1646.274
TiO ₂ 3g/l	870.16	1554.64	ZnO 3g/l	1170.72	2355.98
TiO ₂ 6g/l	1088	1958.77	ZnO 6g/l	0	1547.94
FeOOH 3g/l	1167.29	1786.92	TiO ₂ 3g/l	1344.69	1044.501
FeOOH 6g/l	1311.45	2409.02	TiO ₂ 6g/l	1023.86	1430.141
Fe ₂ O ₃ 3g/l	949.78	1398.26			
Fe ₂ O ₃ 6g/l	1067	8323.51			
Fe ₃ O ₄ 3g/l	1478.26	3416.73			
Fe ₃ O ₄ 6g/l	1388.36	1045.15			
ZnO 3g/l	1170.4	263.08			
ZnO 6g/l	1164.86	3138.39			

Cuadro 2. Valores medios, del área de vasos de xilema en tallo de girasol y frijol de 23 y 73 días de desarrollo, tratadas con nanopartículas a dos concentraciones.

AVXil (μm^2) en Tallo de Girasol			AVXil (μm^2) en Tallo de Frijol		
Tratamiento	A 23 días	A 73 días	Tratamiento	A 23 días	A 73 días
Control 0g	18863.55	1385831.49	Control 0g	1751.222	967.924
TiO ₂ 3g/l	23377.79	162585.52	ZnO 3g/l	958.888	1861.882
TiO ₂ 6g/l	31893.17	111386.53	ZnO 6g/l	0	1681.078
FeOOH 3g/l	45377.85	124818.55	TiO ₂ 3g/l	1542.222	1706.83
FeOOH 6g/l	38193.79	794370.88	TiO ₂ 6g/l	797.618	1259.721
Fe ₂ O ₃ 3g/l	44087.7	149187.54			
Fe ₂ O ₃ 6g/l	40175.68	375415.18			
Fe ₃ O ₄ 3g/l	96818.84	706688.27			
Fe ₃ O ₄ 6g/l	61639.24	51746.5			
ZnO 3g/l	45037.99	34980.09			
ZnO 6g/l	40144.4	234895.19			

Cuadro 3. Valores medios, del área del haz vascular en raíz de girasol y frijol de 23 y 73 días de desarrollo, tratadas con nanopartículas a dos concentraciones.

AHV (μm^2) en Raíz de Girasol			AHV (μm^2) en Raíz de Frijol		
Tratamiento	A 23 días	A 73 días	Tratamiento	A 23 días	A 73 días
Control 0g	1492.93	3169.05	Control 0g	59143.25	125535.288
TiO ₂ 3g/l	1006.46	1015.85	ZnO 3g/l	26785.528	88165.678
TiO ₂ 6g/l	1148.09	2287.48	ZnO 6g/l	0	153321.624
FeOOH 3g/l	1224.61	2429.69	TiO ₂ 3g/l	34668.176	51815.796
FeOOH 6g/l	952.62	2612.89	TiO ₂ 6g/l	51375.824	120866.462
Fe ₂ O ₃ 3g/l	556.97	2370.09			
Fe ₂ O ₃ 6g/l	554.44	2322.7			
Fe ₃ O ₄ 3g/l	1204.85	1773.54			
Fe ₃ O ₄ 6g/l	1141.36	2101.74			
ZnO 3g/l	720.24	1875.7			
ZnO 6g/l	615.73	2997.49			

Cuadro 4. Valores medios, del grosor de la epidermis en tallo de girasol y frijol de 23 y 73 días de desarrollo, tratadas con nanopartículas a dos concentraciones.

LogE (μm) en Tallo de Girasol			LogE (μm) en Tallo de Frijol		
Tratamiento	A 23 días	A 73 días	Tratamiento	A 23 días	A 73 días
Control 0g	14.77	145.75	Control 0g	17.216	21.432
TiO ₂ 3g/l	14.31	150.98	ZnO 3g/l	17.704	15.572
TiO ₂ 6g/l	11.78	161.3	ZnO 6g/l	0	18.626
FeOOH 3g/l	13.98	195.92	TiO ₂ 3g/l	12.416	22.988
FeOOH 6g/l	9.18	47.22	TiO ₂ 6g/l	14.928	21.534
Fe ₂ O ₃ 3g/l	11.22	138.66			
Fe ₂ O ₃ 6g/l	10.15	93.07			
Fe ₃ O ₄ 3g/l	8.85	65.64			
Fe ₃ O ₄ 6g/l	10.41	93.09			
ZnO 3g/l	9.15	68.95			
ZnO 6g/l	8.06	70.96			