

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Aplicación Foliar de Nanopartículas de Óxido de Grafeno, Nanotubos de Carbón y su Efecto en Plantas de *Raphanus sativus* Cultivadas con Sustratos Zeolíticos

Por:

**GILBERTO ABDÓN AGUILAR**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Aplicación Foliar de Nanopartículas de Óxido de Grafeno, Nanotubos de Carbón y su Efecto en Plantas de *Raphanus sativus* Cultivadas con Sustratos Zeolíticos

Por:

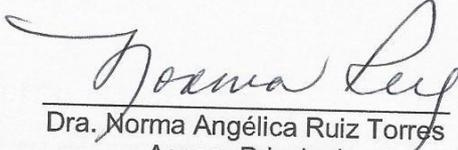
**GILBERTO ABDÓN AGUILAR**

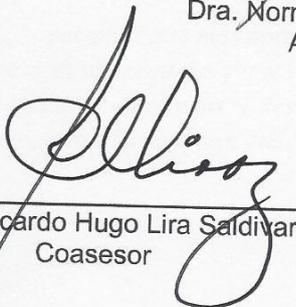
Tesis

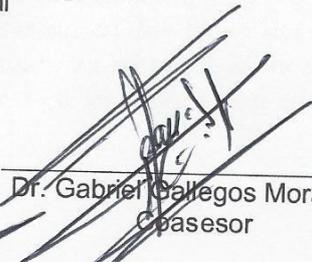
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

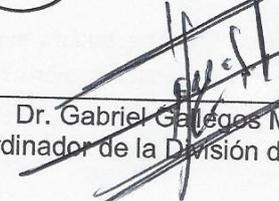
**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
Dra. Norma Angélica Ruiz Torres  
Asesor Principal

  
Dr. Ricardo Hugo Lira Saldivar  
Coasesor

  
Dr. Gabriel Gallegos Morales  
Coasesor

  
Dr. Gabriel Gallegos Morales  
Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.  
Mayo, 2016

## DEDICATORIAS

### A MIS PADRES

*A la Sra. Margarita Aguilar Mendoza y Sr. Ángel Abdón González*

*Por darme la vida, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy, por estar a mi lado cuando más lo necesite, en los buenos y malos momentos, gracias por mostrarme que todo lo que me proponga lo puedo lograr que con un poco de esfuerzo nada es imposible y que a pesar de estar fuera de casa siempre tuvieron la confianza en mí y por todos esos consejos mis viejecitos; ahora puedo decirles lo logre, el objetivo está cumplido.*

### A MIS HERMANOS:

*A Wilbert Ángel Abdón Aguilar mi hermano mayor, mi ejemplo a seguir de la vida, una persona que nunca se da por vencido, a ti te dedico el logro de este trabajo, también a mi hermano menor Ángel Manuel Abdón Aguilar por darle ese ejemplo a seguir para que día a día siga superándose académicamente y que a pesar de tener malas rachas, te esfuerces por un conseguir tus sueños.*

### A TIA Y MI ABUELITA:

*Unas de las personas que más aprecio y quiero mucho en el mundo, a las personas que me vieron crecer desde pequeño y que me dijeron las cosas que estaban bien y mal; por todos esos momentos de angustias y desvelos que les causaba en mi niñez, ahora quiero que sepan que sus enseñanzas han dado frutos y es por eso que les dedico uno de mis logros en mi vida.*

### A MI NOVIA:

*A Eva Carmona Rodríguez gracias por estar siempre a mi lado en las buenos y malos momentos, por tu comprensión, paciencia y amor, porque siempre estuviste dándome ánimos para seguir a delante y quiero que sepas que eres lo más grandioso que me ha pasado en la vida.*

### A TODA MI FAMILIA:

*Gracias a cada uno de mis primos, primas, tíos, tías, que a pesar de estar tan lejos de casa, siempre estuvieron dándome palabras de aliento para seguir adelante, siempre los llevo en mi corazón.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios que siempre me acompañó durante todo el trayecto de mi carrera, por cuidarme y bendecirme en cada paso de mi vida, y por todo lo que Él provee para mí.*

*En primer lugar quiero expresar mis más sinceros agradecimientos al **Dr. Ricardo Hugo Lira Saldivar** por permitirme formar parte de unos de sus proyectos de investigación, por todo el apoyo brindado y por la motivación de seguir aprendiendo siempre cosas nuevas, ya que sin su valioso apoyo no hubiese sido posible la culminación de este trabajo.*

*Al **Dr. Bulmaro Méndez Arguello** por su incondicional acompañamiento en cada momento del desarrollo de la investigación; por la asesoría brindada, tanto en el análisis estadístico como en la interpretación de datos, que sin el esto no hubiera sido posible, gracias por todo los conocimientos adquiridos y que además de ser investigador llegó a ser un gran amigo, que siempre me motivo a ser una persona responsable y dedicada al trabajo.*

*A la **Dra. Ileana Vera Reyes** que formó en gran medida, parte vital de este proyecto de investigación, además de la confianza que demostró tenerme al trabajar a su lado.*

*A la **Dra. Norma Angélica Ruiz Torres** por el apoyo brindado y ser parte importante dentro de este proceso, así como su comprensión y sus buenos deseos.*

*A mis amigos **Samuel Cruz Gonzales** (Chilango), **Iván Bonilla Ortiz** (Boni), **Alfonso Hermilo Hernández Pérez** (Poncho), **Asaid Adán Díaz Gómez** (Chato), **Humberto Alejandro Aguilar Sánchez** (Primo) por brindarme su amistad y por todos los momentos de estudio y desvelos que tuvimos en toda la carrera.*

*A mis compañeros del Internado Varonil Palomar 2, cuarto #12 a **Luis Espinoza Aguilar** (Furias), **German Alonso García** (Tachí) y **Alfredo Aguilar** (Fredo), **Saúl Sevilla** (Gato) y **Patricio Nazaret** (Chiquitín) por brindarme su amistad y convivir a su lado durante tres años y medio (mi estancia en el internado).*

*A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** (UAAAN) por brindarme un lugar en esta institución, universidad de gran prestigio agronómico en México; por darme las herramientas necesarias para ejercer como todo un profesionista en el mundo laboral y sobre todo por permitirme llevar en alto el nombre de la universidad.*

# ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS .....	I
ÍNDICE DE FIGURAS .....	III
RESUMEN .....	IV
I.    INTRODUCCIÓN .....	1
II.   OBJETIVO GENERAL .....	4
2.1  Objetivos específicos.....	4
2.2  HIPÓTESIS .....	4
III.  REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1  ¿Qué es la nanotecnología?.....	5
3.1.1  Antecedentes de la nanotecnología .....	5
3.1.2  Disciplinas que influyen en el desarrollo de la nanotecnología.....	6
3.1.3  Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura.....	7
3.2  Nanofertilizantes.....	12
3.3  Nanoherbicidas.....	12
3.4  Nanopesticidas .....	13
3.5  Nanopartículas .....	14
3.5.1  Origen de las nanopartículas.....	16
3.5.2  Fitotoxicidad de las nanopartículas .....	17
3.5.3  Nanotoxicidad en el ambiente .....	17
3.5.4  Vías de absorción y movilidad de las nanopartículas en las planta.....	19
3.6  Nanotubos de carbón .....	20
3.7  Óxido de grafeno (OG) .....	21
3.8  ¿Qué son las zeolitas? .....	23
3.8.1  Características generales de las zeolitas .....	23
3.8.2  Uso de las zeolitas en la agricultura .....	24
3.8.3  Zeolitas como biofertilizante .....	25
IV.   MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
4.1  Análisis estadístico .....	30
V.    RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
VI.   CONCLUSIÓN .....	52
VII.  LITERATURA CITADA.....	53

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Bioensayos 1 y 2: aplicación de grafito, nanopartículas de óxido de grafeno, nanotubos de carbón y carbón mineral a semillas de rábano, bajo condiciones de invernadero.....	28
Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo I: aplicación de grafito y nanopartículas de óxido de grafeno a semillas de <i>Raphanus sativus</i> bajo condiciones de invernadero.....	31
Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo I: aplicación de grafito y nanopartículas de óxido de grafeno aplicadas a semillas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero.....	32
Cuadro 4. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo I: aplicación de grafito y nanopartículas de óxido de grafeno a semillas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero. ....	33
Cuadro 5. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo I: aplicación de grafito y nanopartículas de óxido de grafeno a semillas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero.....	34
Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo II: aplicación de carbón mineral y nanotubos de carbón a semillas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero .....	35
Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo II: aplicación de carbón mineral y nanotubos de carbón a semillas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero .....	36
Cuadro 8. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo II: aplicación de carbón mineral y nanotubos de carbón a semillas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero.....	37
Cuadro 9. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo II: aplicación de carbón mineral y nanotubos de carbón a semillas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero. ....	38
Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo III: aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero.....	39
Cuadro 11. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo III: aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero. ....	40
Cuadro 12. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo III: aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero.....	42

Cuadro 13. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo III: aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero. ....	44
Cuadro 14. . Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo IV: aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero. ....	46
Cuadro 15. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo IV: aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero ....	47
Cuadro 16. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo IV: aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero. ....	48
Cuadro 17. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo IV: aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de <i>R. sativus</i> bajo condiciones de invernadero ....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de las diferentes aplicaciones potenciales de la nanotecnología en diversos aspectos de la agricultura moderna. ....	8
Figura 2. Plantas de tomate tratadas con y sin nanotubos de carbón. Las plantas que recibieron el tratamiento de nanotubos de carbón germinaron y se desarrollaron más rápido.....	9
Figura 3. Las nanopartículas de plata han demostrado tener efecto potencial como bactericida contra <i>Paramecium caudatum</i> .....	11
Figura 4. Las nanopartículas de oro están siendo usadas para detectar virus causantes de gripas (Flu) y graves enfermedades como el HIV o Sida .....	16
Figura 5. Muestra las diferentes vías de asociación, absorción, y translocación de nanopartículas en las plantas, el grosor de las líneas está relacionado con el nivel de importancia de las vías.....	20
Figura 6. a) Roca natural de zeolita, b) Zeolita molida a un tamaño de partícula de 3 mm y c) Zeolita molida a 0.50 mm .....	23

**RESUMEN**  
**Aplicación Foliar de Nanopartículas de Óxido de Grafeno, Nanotubos de Carbón y su Efecto en Plantas de *Raphanus sativus* Cultivados con Sustratos Zeolíticos.**

El estudio se realizó en un invernadero de mediana tecnología en las instalaciones del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), en Saltillo, Coahuila, México, durante el periodo junio-julio del 2015. El objetivo de la investigación fue determinar el efecto de las nanopartículas (NPs) de óxido de grafeno y nanotubos de carbón en crecimiento, desarrollo y producción de biomasa seca de plantas de rábano cultivados con sustratos conteniendo zeolita, en condiciones de invernadero. Se establecieron cuatro bioensayos de estudio que consistieron en dos fases. En la primera fase se realizaron dos bioensayos con aplicaciones independientes de nanopartículas de óxido de grafeno y de nanotubos de carbón a 0, 100 y 200 ppm, para lo cual se imbibieron 40 semillas de rábano en 20 ml de solución durante dos horas, y posteriormente se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades. La segunda fase consistió en dos bioensayos con dos sustratos diferentes (70% peat moss + 30% perlita, y 70% peat moss + 30% zeolita), más aplicaciones independientes de grafito, nanopartículas de óxido de grafeno, nanotubos de carbón y carbón mineral a concentraciones de 0, 100 y 200 ppm; evaluando las plantas por un método destructivo al final del experimento. En la primera fase los bioensayos se establecieron en un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y diez repeticiones cada uno; en la segunda fase se utilizó un diseño factorial 2 x 3 (seis tratamientos) y cinco repeticiones cada uno. El análisis de las variables fisiológicas para todos los bioensayos se realizó mediante un ANVA y una prueba de rango múltiple Tukey ( $P \leq 0.05$ ) con el software estadístico JMP-SAS versión 5.0 (SAS Institute, 2002).

En la primera fase, los resultados indican que al tratar semillas con solución de grafito a 100 y 200 ppm, se incrementa el número de hojas y la biomasa seca de raíz, en comparación con la aplicación de NPS de óxido de grafeno, que presenta una mayor acumulación de biomasa en la raíz. Por otra parte, al aplicar nanotubos de carbón y carbón mineral a 100 y 200 ppm no se observó crecimiento, desarrollo y producción de biomasa, sin embargo, las semillas tratadas con carbón mineral a 200 ppm aumentaron la longitud de raíz, comparadas con las semillas tratadas con nanotubos de carbón y el testigo.

Por otra parte, en la segunda fase los resultados indican que las plantas de rábano de la variedad Champion cultivadas en sustratos zeolíticos y sin aplicaciones de NPs de óxido de grafeno, fueron las que mejor se comportaron, donde se observa un mayor desarrollo. Las aplicaciones de óxido de grafeno por si solas, presentaron el mismo comportamiento que el control, a excepción de la aplicación sola de NPs de óxido de grafeno a 200 ppm, donde se obtuvo mayor altura de planta. En el bioensayo con aplicación foliar de nanotubos de carbón, con las dos fuentes de sustrato diferente, se observó una sinergia en la combinación de sustratos zeolíticos mas la aplicación de nanotubos de carbón a 100 y 200 ppm, ya que se obtuvo mayor peso fresco de bulbo y peso fresco de la parte aérea en el cultivo de rábano.

**Palabras clave:** hortalizas, zeolita, nanotecnología, nanopartículas, óxido de grafeno y nanotubos de carbón.

Correo electrónico; Gilberto Abdón Aguilar: [gilberto.abdon93@outlook.com](mailto:gilberto.abdon93@outlook.com)

## I. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es una de las ciencias con más innovación científica que estudia materiales a escala nanométrica y que por primera vez en el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) en Septiembre del 2003 se dio a conocer avances en el área de la industria alimentaria. Por ejemplo, dentro de las principales áreas de desarrollo, se destacó el envasado, el desarrollo de alimentos nanofuncionales (encapsulados), la calidad y seguridad alimentaria y la mejora de los procesos de los alimentos (Eizagirr, 2012). En una encuesta realizada por Salamanca-Buentella *et al.* (2005), también se dieron a conocer algunas de las aplicaciones nanotecnológicas en el sector agrícola. Algunas de ellas fueron: zeolitas de liberación lenta y dosis eficientes de agua y fertilizante para las plantas; medicamentos para el ganado; nanocápsulas, entrega de herbicidas y nanosensores para la calidad del suelo y vigilancia de la salud de plantas; nanosensores para la detección de plagas, nanoimanes para la eliminación de contaminantes del suelo y nanopartículas para nuevos plaguicidas, insecticidas y repelentes de insectos.

Laware y Raskar (2014) al evaluar la influencia de las nanopartículas (NPs) del Óxido de Zinc (ZnO) en las variables de crecimiento, floración y producción de semillas de cebolla, las plantas fueron asperjadas tres veces en un intervalo de 15 días con concentraciones de NPs de ZnO, obtuvieron que a una concentración de 20 y 30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  se tiene un mejor crecimiento y precocidad en la floración. Por otro lado, Hediat y Salama (2012) analizaron el efecto de NPs de plata en el cultivo del frijol y maíz a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm al realizar este experimento obtuvieron como resultado que al elevar la concentración de 20 a 60

ppm, las variables de longitud de tallo y raíz, área foliar; contenido de clorofila, hidratos de carbono y de proteína aumentaban con las NPs de plata.

Existen trabajos que demuestran que el uso de nanopartículas en los cultivos tienen efectos positivos, Servin *et al.* (2015) señalan en uno de sus trabajos que el uso de los nutrientes a nanoescala (metales, óxidos metálicos, carbono) puede ayudar a eliminar las enfermedades de las plantas y, posteriormente, aumentar el crecimiento y el rendimiento, y destacan que hay relación con el alto potencial nutricional de las nanopartículas.

Ruíz *et al.* (2011) analizaron un cultivo bacteriano al cual se le agregó 25 mg L<sup>-1</sup> de óxido de grafeno (OG), y los resultados de este experimento mostraron que las bacterias crecían rápidamente, llevándolos a realizar un análisis mucho más detallado; debido a esto trabajaron con filtros recubiertos a 25 y 75 µg de óxido de grafeno, al hacer esto obtuvieron un aumento de dos y tres veces más que en los filtros sin OG; los autores llegaron a la conclusión de que el OG actúa como un potenciador del crecimiento celular mediante el aumento de fijación y proliferación celular. Ocsoy *et al.* (2013) al utilizar un compuesto elaborado a base de OG más plata (Ag), encontraron que a una concentración de 100 ppm aplicadas a plantas de tomate infectadas por la bacteria *Xanthomonas perforans*, este redujo significativamente la gravedad de la enfermedad en comparación con las plantas no tratadas, dando resultados similares a las cultivadas con tratamientos tradicionales, sin fitotoxicidad.

El uso inadecuado de la fertilización en los cultivos, es una de las causas principales de la salinización de los suelos en México, ya que la mayoría de los fertilizantes empleados en el sector agrícola no son aprovechados en su totalidad por la planta

y estos tienden a ser lixiviados hacia los mantos freáticos provocando la contaminación del agua.

La presente investigación fue desarrollada para obtener información sobre los efectos de las nanopartículas de (OG) y Nanotubos de Carbón (NTC) aplicados foliarmente al cultivo de rábano a diferentes concentraciones, para proporcionar a la población información sobre el posible uso como nano-fertilizantes en una forma más dirigida a la planta, para así evitar pérdidas económicas en la utilización de fertilizantes y prevenir contaminación de mantos acuíferos por lixiviación de nitratos.

## **II. OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto de las nanopartículas de óxido de grafeno y de los nanotubos de carbón sobre el crecimiento, desarrollo y producción de biomasa seca en el cultivo de rábano con sustratos zeolíticos, bajo condiciones de invernadero.

### **2.1 Objetivos específicos:**

- Evaluar el efecto de las nanopartículas de óxido de grafeno y de los nanotubos de carbón en el crecimiento, desarrollo y producción de biomasa seca en germinación y crecimiento de plántulas de rábano.
- Evaluar el efecto de las nanopartículas de óxido de grafeno y de los nanotubos de carbón en el crecimiento, desarrollo y producción de biomasa seca en el cultivo de rábano.
- Evaluar el efecto de la mezcla de dos sustratos (70% peat moss + 30% zeolita) y (70% peat moss+ 30% perlita) en el crecimiento, desarrollo y producción de biomasa seca en el cultivo de rábano.

### **2.2 Hipótesis**

Los sustratos conteniendo zeolita combinados con la aplicación al follaje de soluciones con nanopartículas, promoverán el crecimiento, y producción de biomasa seca desarrollo de las plantas de rábano.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 ¿Qué es la nanotecnología?

La nanotecnología (NT) se presenta como una nueva área de investigación que permite estudiar fenómenos que ocurren a nivel atómico y molecular, su importancia radica en el mundo nanométrico ya que los materiales pueden adquirir o realzar propiedades diferentes a las que se tienen a escala macroscópica (Mendoza y Rodríguez, 2007). Por otra parte, también brinda ayuda al estudio de los fenómenos que ocurren en la naturaleza y el dinamismo de su actividad, proporcionando información científica que ayuda a las técnicas y procesos de producción industrial y en consecuencia, en el desarrollo económico y social (Guzmán y Toledo, 2009). Sin embargo, la NT le ha dado mayor alcance a la agricultura y a producción de alimentos frescos, alcanzando un alto nivel de eficiencia y calidad. De tal manera que se estiman más de 300 nanoproductos alimenticios disponibles en el mercado actual (Lira *et al.*, 2014).

##### 3.1.1 Antecedentes de la nanotecnología.

La NT ha estado presente en la civilización desde la antigüedad y con el paso del tiempo ha ido creciendo a pasos agigantados, particularmente a partir de los años 80 y manteniéndose hasta la fecha (Alonso *et al.*, 2015). Los orígenes de la NT se dieron por primera vez por el físico estadounidense Richard Phillips Feynman ganador del premio Nobel de Física quien en 1959 ante la Sociedad Americana de Física impartió la conferencia “Hay mucho sitio en el fondo”. En aquella conferencia, Feynman propuso manipular y fabricar artefactos con una precisión de unos pocos átomos; a pesar de dicha plática, esas ideas

permanecieron hipotecadas por mucho tiempo. No obstante, paulatinamente se produjeron algunos acontecimientos importantes que crearon los cimientos para el desarrollo actual de la NT, entre ellos se encuentran: en 1974 se produjo el primer registro de una patente de un dispositivo molecular por Aviram y Seiden de la corporación IBM; en 1982 el suizo Gerd Binnig y el alemán Heinrich Rohrer inventaron el microscopio de barrido de efecto túnel, el cual permite ver objetos de tamaño nanométrico; en 1985 se descubrieron las jaulas esféricas con 60 átomos de carbono conocidas como fulerenos por Binnig y Rohrer del microscopio de fuerza atómica.

En 1986, Eric Drexler publicó el libro “Los motores de la creación”, con una amplia visión de futuro de lo que se llamaría Nanotecnología Molecular; en 1989, dos científicos de IBM hicieron posible la grabación de datos a escala nanométrica y en 1991 el japonés Sumio Iijima informó de la existencia de nanotubos de carbono, de amplio uso en la actualidad (Hevia *et al.*, 2009). Por otro lado, la aplicación de la NT en la agricultura y en la industria alimentaria se trató por primera vez en el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) en septiembre de 2003 (Eizagirr, 2012).

### **3.1.2 Disciplinas que influyen en el desarrollo de la nanotecnología**

La NT ha evolucionado a través del tiempo mediante la aportación interdisciplinar de ideas y propuestas por la biología, química, física, ingeniería y de la medicina, donde se reúnen estrategias que van a permitir diseñar, sintetizar y fabricar materiales y dispositivos con propiedades mejoradas o completamente nuevas. La biología es una de las ciencias que juega un papel clave dentro de la nanotecnología. Por ejemplo, sabiendo que una salamandra se adhiere a la pared

gracias a la presencia de nanoestructuras en sus dedos, es posible diseñar nuevos adhesivos; por otro lado encontrar en las nanoestructuras que repelen el agua (hidrófobas) que hay en una hoja de loto, y que le permiten sobrevivir en el agua sin pudrirse. Este conocimiento nos permite idear tejidos que no se mojan y que se usan en numerosas prendas de vestir (Amalio, 2011).

### **3.1.3 Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura**

Los científicos agrícolas se enfrentan a una amplia gama de desafíos, tales como el estancamiento en el rendimiento de los cultivos, la baja eficiencia del uso de nutrientes, la disminución de materia orgánica del suelo, deficiencias multi-nutricionales, el cambio climático, la reducción de la disponibilidad de tierras cultivables y el agua y la escasez de mano de obra. Para hacer frente a estos problemas, existe la necesidad de explorar una de las tecnologías de vanguardia tales como la NT, con la finalidad de precisar, detectar y entregar la cantidad correcta de nutrientes y plaguicidas que promueven la productividad, al tiempo que garantiza la seguridad del medio ambiente (Subramanian y Tarafdar, 2011).

En la Figura 1 se muestra un esquema que ilustra las diferentes aplicaciones potenciales de la NT en diversos aspectos de la agricultura moderna (Ghormade *et al.*, 2011).

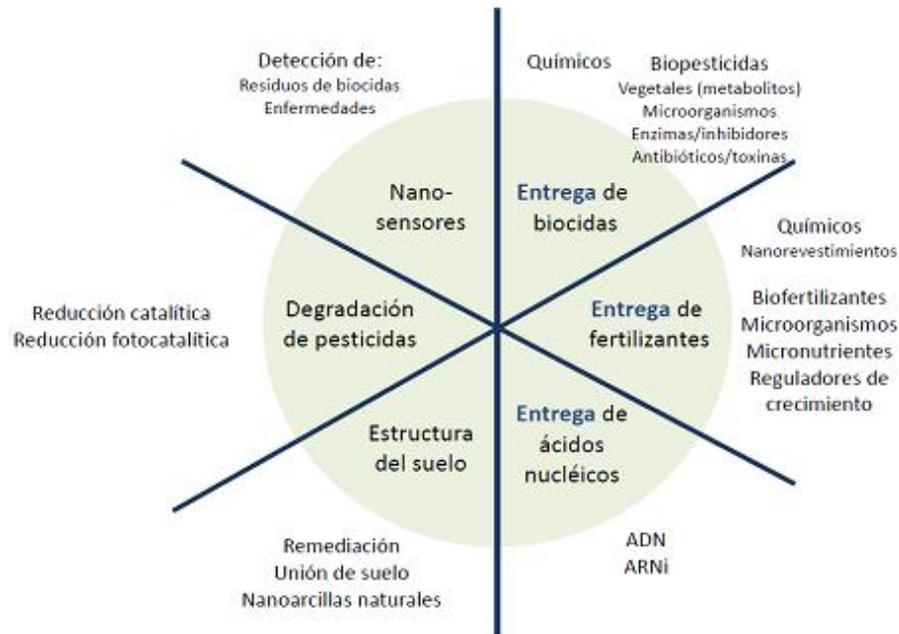


Figura 1. Esquema de las diferentes aplicaciones potenciales de la nanotecnología en diversos aspectos de la agricultura moderna.

Las NPs también están siendo empleadas para el control de enfermedades de plantas. Hoy en día, la aplicación de fertilizantes agrícolas, pesticidas, antibióticos y nutrientes en el área agropecuaria suele ser por aspersion al suelo o a las plantas, por medio de los sistemas de fertirriego o en la alimentación a los animales. La aplicación de los plaguicidas o medicamento se ofrece como tratamiento preventivo, o se proporciona una vez que el organismo causante de la enfermedad se ha multiplicado y sus síntomas son evidentes en la planta. En este contexto, las nanotecnologías ofrecen una gran oportunidad para desarrollar nuevos productos contra plagas (Begum *et al.*, 2010).

Los nanotubos de diversos materiales han venido siendo utilizados en la agricultura para promover el crecimiento de plantas (Figura 2). Estos resultados han sido generados por investigadores de la Universidad de Arkansas en el Centro de Nanotecnología de Little Rock, USA, quienes han descubierto que la exposición de

las semillas de tomate a los nanotubos de carbono hace que las plantas de tomate crezcan más rápido (Khodakovskaya *et al.*, 2009).



Figura 2. Plantas de tomate tratadas con y sin nanotubos de carbón. Las plantas que recibieron el tratamiento de nanotubos germinaron y se desarrollaron más rápido.

Químicos de la Universidad Estatal de Iowa han utilizado nanopartículas de sílice mesoporosa (MSN) de 3 nm para la entrega de ADN y sustancias químicas en las células vegetales aisladas. Las NPs MSN son químicamente revestidas y sirven como contenedores de los genes entregados a las plantas. El recubrimiento provoca que la planta pueda tomar las partículas a través de las paredes de las células, donde se insertan y se activan los genes de una manera precisa y controlada, sin ningún efecto secundario tóxico después. Esta técnica se ha aplicado con éxito para introducir NPs en calabazas y ADN a plantas tabaco y maíz (Corredor *et al.*, 2009).

Actualmente los nanodispositivos se consideran que tendrían la capacidad de detectar y tratar una infección, deficiencia de nutrientes, o cualquier otro problema de salud, mucho antes de que los síntomas eran evidentes en la escala macro. Este tipo de tratamiento puede ser dirigido a la zona afectada con un una

mayor conciencia de los riesgos asociados con el uso de sintética insecticidas orgánicos, se ha producido una necesidad urgente de explorar adecuadamente productos alternativos para el control de plagas (Anwunobi y Emeje, 2011).

El trabajo de Pérez-de-Luque y Rubiales (2009), puso de manifiesto que la NT está abriendo nuevas aplicaciones potenciales para la agricultura, las cuales ya están siendo exploradas. En el reporte se discute el desarrollo de nanodispositivos como sistemas de administración inteligentes para atacar sitios y nanotransportadores de emisiones químicas específicas controladas.

Algunas nanotecnologías pueden mejorar las técnicas del manejo de cultivos existentes en el corto y mediano plazo. Las nanocápsulas ayudarán a evitar la fitotoxicidad en el cultivo mediante la utilización de herbicidas sistémicos contra malezas parásitas. La nanoencapsulación puede mejorar la aplicación de herbicidas, proporcionando una mejor penetración a través de cutículas y tejidos, ya que permite la liberación lenta y constante de las sustancias activas.

Muchos problemas todavía no se han abordado, como el aumento de la escala de los procesos de producción y reducir los costos, así como los problemas toxicológicos, pero las bases de un nuevo concepto de tratamientos de las plantas se han establecido, y las aplicaciones en el campo de control de la plantas malezas parásitas ya ha comenzado.

Por ejemplo, las NPs de sílice poroso de 15 nm y el quitosán biodegradable polimérico de 78 nm, muestran una liberación lenta de pesticidas encapsulados y fertilizantes, respectivamente. Además, el oro nanométrico (5-25 nm) entregó ADN a las células vegetales, mientras que el óxido de hierro (30 nm) usado en nanosensores pudo detectar pesticidas en niveles muy pequeños. Estas funciones

ayudan al desarrollo de la agricultura de precisión, reduciendo al mínimo la contaminación y permiten maximizar el valor de las prácticas agrícolas sustentables (Ghormade *et al.*, 2011).

El estudio de (Kvitek *et al.* 2009), demostró que las NPs de plata tienen un efecto significativo como bactericida contra *Paramecium caudatum* (Figura 3). Estos microorganismos habitan en aguas dulces estancadas con abundante materia orgánica, como charcos y estanques. Son probablemente los seres unicelulares mejor conocidos y los protozoos ciliados más estudiados por la ciencia. El tamaño ordinario de todas las especies de paramecios es de apenas 0.5 mm y pueden causar graves enfermedades en humanos.



Figura 3. Las nanopartículas de plata han demostrado tener efecto potencial como bactericida contra *Paramecium caudatum*.

La plata posee propiedades antibacterianas naturales y estas propiedades son reforzadas cuando el metal forma partículas muy pequeñas con una medida de 10 a 20 nm cada una. Las NPs de plata también disminuyen la necesidad de lavar los tejidos con tanta periodicidad, ya que las bacterias son destruidas y al ser tan pequeñas las partículas que ocupan los espacios de las fibras evitan la acumulación

de todo tipo de suciedad y manchas. Los tejidos que no permiten la penetración de líquidos, consisten en adherir filamentos diminutos a las fibras textiles utilizando ganchitos nanométricos. Estos filamentos impiden que los líquidos penetren la superficie de la tela (Quintili, 2012).

### **3.2 Nanofertilizantes**

Los fertilizantes juegan un papel muy importante dentro de la agricultura, pero el uso intensivo provoca la salinización de los suelos, y para remediarlo se ha optado por usar alternativas para disminuir este tipo de problemas. Por lo tanto, el suministro de nanofertilizantes al suelo ayuda a tener una rápida captación de los nutrientes del suelo a la planta, al aumentar la eficiencia del intercambio simbiótico entre los nutrientes del suelo y el sistema radicular de la planta, ayudando a obtener un mayor rendimiento de los cultivos (Rameshaiah *et al.*, 2015).

### **3.3 Nanoherbicidas**

Uno de los problemas típicos en el manejo de los cultivos en la agricultura, es la presencia de malas hierbas, fuente principal de propagación de plagas y enfermedades, para combatir este tipo de problemas se ha optado por emplear nanoherbicidas. Dado que las nanopartículas tienen un objetivo específico de destruir las malas hierbas y lograr conseguir mejor rendimiento en los cultivos (Prasad *et al.*, 2014). También hay trabajos realizados en el estudio de la liberación controlada de herbicidas para poder limitar el daño que causan al ser humano. Hablando más ampliamente del tema se han utilizado nanoencapsulados de herbicidas a base de triazina, ametrina y atrazina que fueron ya fueron probados y obtuvieron un 84% de eficiencia en su liberación hacia las plantas (Grillo *et al.*, 2012). La atrazina es un herbicida utilizado ampliamente para eliminar las malezas

que crecen cerca de los cultivos, y su uso continuo ocasiona que los suelos pierdan sus nutrientes y crean resistencia a las plantas, por lo tanto, la aplicación de carboximetilcelulosa modificado con nanopartículas plata hace que la degradación del herbicida sea mucho más fácil (Susha *et al.*, 2008).

### **3.4 Nanopesticidas**

Los pesticidas se dividen en cuatro subcategorías, según el destino de acción específica, destruir totalmente o hacer resistente a la planta. Estas categorías incluyen herbicidas que actúan sobre las malezas, insecticidas para el control de plagas, fungicidas para algunas enfermedades y desinfectantes para las bacterias, y prevenir que estas se sigan propagando. La preparación de pesticidas a base de nanoencapsulados, hace que la liberación en la planta sea mucho más lenta, aumentando su nivel de acción y por ende una disminución en su utilización, mejorando la solubilidad del suelo y las plantas (Chinnamuthu y Murugesu, 2009). *Spodoptera littoralis*, una importante plaga en el cultivo de tomate, desarrolló resistencia a casi todos los pesticidas con los que era controlada, El-bendaryand *et al.* (2013) evaluaron el efecto que tenía la cubierta de hidróxido de sílice a 300-350 ppm sobre esta plaga y encontraron una respuesta positiva en su aplicación. Por otra parte, un trabajo realizado por Sarlak *et al.* (2014), demostraron que al mezclar ácido cítrico con NPs de nanotubos de carbón de pared múltiple, se tenían un mayor control contra el hongo de *Alternaria alternate* a comparación de productos comerciales como el Zineb y Mancozeb, productos que se encuentran atrapados en una solución acuosa.

### **3.5 Nanopartículas**

Las nanopartículas (NPs), ya sean de nanopolvo, nanoracimo, o nanocristal, es una partícula microscópica con una dimensión menor de 100 nm. Actualmente las NPs son un área de intensa investigación científica, debido a una amplia variedad de aplicaciones potenciales en los campos de biomédicos, ópticos, alimentos y electrónicos (Alam *et al.*, 2013).

El uso principal de las NPs en la industria alimentaria se debe a su actividad antimicrobiana, por ejemplo el dióxido de titanio, es un colorante alimentario que puede utilizarse como barrera de protección en el envasado de alimentos o las NPs de plata utilizadas como agentes antimicrobianos en los paneles de los refrigeradores y frigoríficos, así como en los recipientes de almacenamiento, líneas de envasado y otras superficies destinadas a entrar en contacto con los alimentos. Las NPs orgánicas se emplean principalmente para mejorar el valor nutritivo de los alimentos, utilizándose como vehículo para la liberación de vitaminas y otros nutrientes incorporados en nanocápsulas (Karunaratne, 2007).

Diversos experimentos para conocer el tamaño óptimo, forma y concentración de las nanopartículas, para que estas puedan ser aplicadas a las plantas para mejor penetración y la translocación, se llevaron a cabo. Las NPs fueron capaces de penetrar los tejidos vegetales cuando se aplican sobre las hojas de las plantas, y estas se desplazan hacia diferentes partes de la planta. Los resultados demuestran que tan solo el 14.7% del nanomaterial aplicado a las plantas se pierde mediante la técnica de aerosol (usando nebulizador), en comparación con la pérdida de 32.5% en técnicas convencionales. Bajo concentraciones menores a 5 ppm, las nanopartículas se pueden absorber mejor y movilizarse a través de las hojas de las plantas; por lo tanto, a mayor tamaño de

nanopartícula menor será la penetración en las plantas. Se recomiendan utilizar tamaños menores a los 20 nm para ser aplicadas (Tarafdar *et al.*, 2012).

Las NPs de cobre (NPs Cu) han atraído la atención en los últimos años por ser un metal semiconductor, por sus propiedades físicas, químicas, antimicrobianas, así como por su abundancia (Betancourt *et al.*, 2013). El cobre ha sido de interés particular porque a diferencia de otros metales antimicrobiales, este presenta un espectro amplio de acción contra bacterias y hongos. El factor responsable de las propiedades antimicrobiales del cobre es la habilidad que tiene para aceptar o donar electrones, para así tener un nivel alto de oxidación catalítica y una reducción potencial alta. Cuando el cobre está en un estado de oxidación ( $\text{Cu}^{2+}$ ), es altamente efectivo como antimicrobiales debido a la interacción con ácidos nucleicos, sitios activos enzimáticos y componentes de la membrana de las células que causan la enfermedad (Cioffi *et al.*, 2005).

Las NPs de oro (Figura 4) pueden calentar un área de mil veces su tamaño; sus propiedades caloríficas se comprueban en medios como el agua, el hielo y en una lámina de polímero que consta de un diseño con el que se imitan los materiales presentes en sistemas biológicos. Sus ventajas radican en que son poco reactivas, poseen una fácil funcionalización y son muy resistentes a la oxidación y a la corrosión (Chithrani *et al.*, 2006).



Figura 4. Las nanopartículas de oro están siendo usadas para detectar virus causantes de gripas (Flu) y graves enfermedades como el VIH o Sida.

### **3.5.1 Origen de las nanopartículas**

Existen algunos tipos de nanopartículas que son producidas por procesos industriales; como la pirolisis a la llama del carbón negro, la producción de materiales a gran escala por procedimientos a altas temperaturas (como el humo de sílice, partículas ultra finas de óxido de titanio y metales ultra finos), los procesos de combustión (diesel, carbón), la obtención de pigmentos, o los procesos domésticos (Gutiérrez *et al.*, 2013).

Por otra parte, hay nanopartículas que se generan mediante las llamadas nanotecnologías; y que para su obtención se utilizan dos tipos de métodos: los llamados “top-down”, en los que se llega a nanomateriales sometiendo materiales convencionales a diversos procesos y los “bottom-up” en los que se construyen nanopartículas a partir de átomos o moléculas (Gutiérrez *et al.*, 2013).

Algunos son de origen biológico, como por ejemplo muchos virus y bacterias. Otras son de origen mineral o medioambiental, como las que contiene el polvo de arena del desierto o las nieblas y humos derivados de la actividad volcánica o de los fuegos forestales (Gutiérrez *et al.*, 2013).

### **3.5.2 Fitotoxicidad de las nanopartículas.**

El rápido desarrollo y la liberación potencial de nanopartículas modificadas (NP) han ocasionado preocupaciones debido a las propiedades únicas de los nanomateriales. Un aspecto importante de la evaluación del riesgo de las NP es entender la interacción NPs-plantas, un componente esencial de la base de todos

los ecosistemas. El impacto de las NPs en la planta varía, dependiendo de la composición, concentración, tamaño y propiedades físico-químicas de las NPs y especies de plantas (Ma *et al.*, 2010)

La liberación antropogénica de nanopartículas (NP) al medio ambiente se plantea como un peligro para la salud y la vida humana. La interacción entre las nanopartículas y los procesos biológicos están recibiendo cada vez más atención. Esto se debe a que plantas se exponen todo el tiempo al medio ambiente, al aire y el suelo. Así, las NP son adsorbidas por las plantas, a través de nano aberturas de dimensiones micrométricas y se translocan dentro del sistema de la planta. NP persistentes asociados con las plantas entran en la cadena alimentaria humana. La nanotoxicología en plantas es una disciplina que estudia los efectos y mecanismos de toxicidad en las plantas, incluyendo el transporte y las interacciones en la planta (Karl-Josef y Herth., 2011).

### **3.5.3 Nanotoxicidad en el ambiente**

El rápido desarrollo y la amplia gama de aplicaciones de la NT han provocaron un incremento significativo en el número de nanomateriales. Lo que ha llevado a que se realicen estudios toxicológicos en el ambiente, de tal manera que estos comprueben que algunos tipos de nanomateriales artificiales pueden llegar a ser tóxicos para la salud humana y el medio ambiente (Aslani *et al.*, 2014).

Sin embargo, el creciente uso de las nanopartículas ha dado lugar a su liberación en el medio ambiente y la toxicidad de nanomateriales de óxido metal en los organismos se ha convertido en una preocupación para los científicos. Por desgracia, existen controversias sobre los efectos tóxicos y los mecanismos que accionan los nanomateriales de óxido de metal (Chang *et al.*, 2012).

El medio ambiente como uno de los macro determinantes de la salud y la vida humana también sufre en la actualidad el impacto que tiene la aplicación de la NT. Surge como uno de los principales temas de interés en el cuidado de la salud humana en el universo nanotecnológico, la principal incertidumbre se genera sobre la capacidad que tiene la materia y los materiales de adquirir propiedades nuevas (Kumara *et al.*, 2011).

Las posibilidades de tener cambios a escala nanométrica en la elasticidad, la fuerza y el color de una sustancia, su tolerancia a la temperatura, la presión y su capacidad para conducir electricidad, generan interrogantes profundos acerca de lo perjudicial que puede traer la sustancia manométricas para el medio ambiente. Cada vez más las NPs se vuelven "funcionales", en el sentido de que sus superficies se acondicionan para desencadenar reacciones químicas o biológicas específicas. De esta manera se crean mecanismos para la administración de medicamentos a seres humanos y animales con fines específicos o para el tratamiento de los cultivos con plaguicidas y fertilizantes. Su administración con fines específicos facilita el uso más eficaz de las sustancias en cantidades muy inferiores, ya que existe la posibilidad de reducir el uso de productos químicos y materiales, en particular los que perjudican al medio ambiente (Kumara *et al.*, 2011).

La rápida detección gracias a la NT permite una rápida respuesta, lo que minimiza los daños sobre el medio ambiente y sobre quienes nos beneficiamos de él, también reduce los costos de eliminación de la contaminación. Algunos materiales nanoestructurados podrían purificar el agua corriente y subterránea, esta es una realidad, ya que se dispone comercialmente de membranas

nanoporosas que filtran los agentes patógenos y otros materiales indeseables (Kumara *et al.*, 2011).

#### **3.5.4 Vías de absorción y movilidad de las nanopartículas en las plantas**

Tarafdar *et al.* (2012) llevaron a cabo una serie de experimentos para conocer el tamaño, forma y concentración de las NPs; mejorando las formas de penetración y translocación en las plantas. Los resultados obtenidos demostraron que las partículas de menos de 5 nm se translocan fácilmente a través de los poros de la célula con un diámetro de 5-8 nm, y que las NPs de hasta 20 nm pueden moverse entre células a través de los plasmodesmos. Por otra parte, también se observaron pérdidas de un 14.7% mediante la técnica de aerosol (usando nebulizador) y un 32.5% por aplicación normal.

Las NPs pueden ser absorbidas por las superficies de las plantas a través de las aberturas naturales llamados “estomas o tricomas”, facilitando la absorción de las NPs del aire, mientras que en la parte radicular de la planta se facilita su absorción por la presencia de raíces semipermeables (Dietz y Herth, 2011). La absorción de las NPs en la planta tienen diversas rutas las cuales dependen del tamaño y superficie que utilizan estas, ya que las hojas y frutos tienen una epidermis que está cubierta por una cutícula que permite la entrada de las NPs, pero las propiedades permeables entre la cutícula, la epidermis y tricoma o estomas son diferentes ya que las propiedades de la cutícula puede cambiar de acuerdo a la temperatura (Schreiber, 2011).

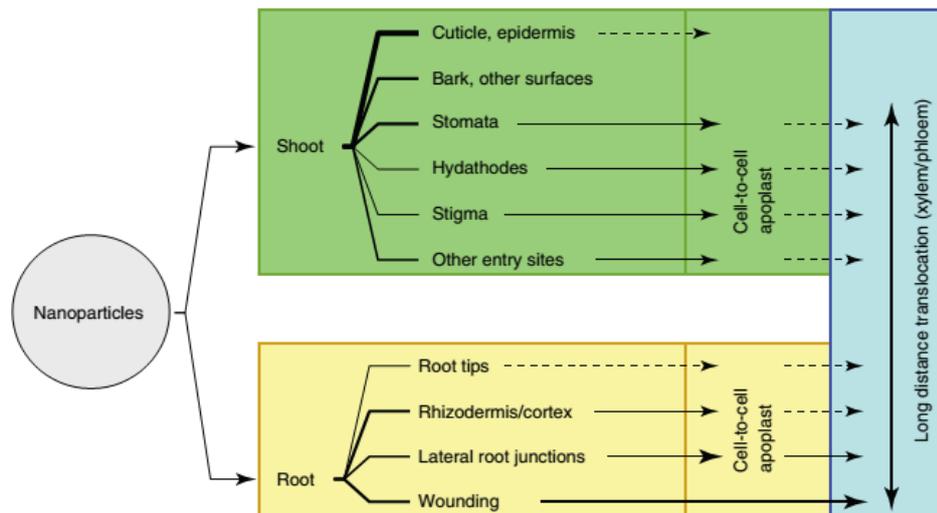


Figura 5. Muestra las diferentes vías de asociación, absorción, y translocación de nanopartículas en las plantas, el grosor de las líneas está relacionado con el nivel de importancia de las vías.

### 3.6 Nanotubos de carbón (NTC)

El carbono es uno de los elementos más comunes que existen en la naturaleza, se presenta en varias formas, algunas de ellas son: diamante, grafito, fulerenos, nanotubos de carbono y grafeno. Actualmente, los nanotubos de carbono (NTC) son considerados como una nueva forma de carbono puro y pueden ser visualizados como hojas de grafito con una red hexagonal de carbonos enrollada; pueden ser de dos tipos: de pared simple, el cual es como un cilindro y multipared que consiste de muchos cilindros anidados cuyos radios sucesivos difieren en el espacio entre capas de grafito (Gogotsi, 2006).

Los NTC poseen una correcta combinación de propiedades: un diámetro nanométrico, integridad estructural, alta conductividad eléctrica y estabilidad química (Ajayan y Zhou, 2001). Las aplicaciones de los NTC en el campo de la biotecnología son varias y éstas incluyen a los nanotubos como componentes para

ADN, proteínas y como biosensores, bloqueadores de canales iónicos, biocatálisis, en neurociencias e ingeniería de tejidos (Klingeler y Sim, 2001).

### 3.7 Óxido de grafeno (OG)

El OG es una lámina de grafeno funcionalizada con diferentes grupos oxigenados, que se puede emplear como precursor del grafeno o como un material grafénico en sí mismo. Es aislante, higroscópico, con alto contenido de oxígeno y muy hidrofílico (Chem *et al.*, 2012).

El OG no solo se emplea como precursor de materiales grafénicos por ser susceptible de ser reducido y funcionalizado, sino que además es un material bidimensional al igual que el grafeno, con muchas propiedades interesantes y posibles aplicaciones derivadas de ellas. Algunas de estas propiedades y posibles aplicaciones se describen a continuación:

- El OG se dispersa fácilmente en agua mediante ultrasonidos o agitación mecánica. Además, también puede suspenderse en otros disolventes orgánicos como el dimetilformamida, N-metilpirrolidona o el tetrahidrofurano ya que es anfifílico, una propiedad de los tensoactivos que pueden tanto atraer como repeler el agua.
- Los grupos hidroxilo, epoxi y carbonilo presentes en la estructura del OG hacen que este sea muy hidrofílico, de tal forma que las moléculas de agua absorbidas tiendan acumularse entre las láminas del OG incluso durante largos periodos de secado. Esto puede dar lugar a la formación de enlaces por puentes de hidrogeno entre los grupos oxigenados y las moléculas de agua, lo que tendrá una gran influencia en sus propiedades electrónicas, mecánicas y estructurales (Lerf *et al.*, 2006).

- El OG es en general un aislante, aunque su conductividad depende de sus propiedades químicas y estructurales, especialmente del desorden producido por los grupos Csp<sup>3</sup>. Sin embargo, al reducirlo para obtener grafeno (óxido de grafeno reducido –rOG-) sus propiedades cambian, por lo que puede llegar a ser un semiconductor como el grafeno. Además, las láminas de OG se pueden depositar se pueden depositar básicamente sobre cualquier sustrato para (después de ser reducido o no, según la aplicación posterior) ser empleada en la fabricación de elementos electrónicos flexibles, sensores químicos, células solares, etc. (Eda *et al.*, 2008).

- Se ha demostrado que las películas de OG son antibactericidas (Hu *et al.*, 2010), por lo que podría tener múltiples aplicaciones en el campo de la medicina o de la industria alimentaria, entre otros.

- Los OGs son fácilmente funcionalizables, lo que abre una puerta a un sinfín de aplicaciones, entre las que se encuentra el campo de la biomedicina para su empleo, por ejemplo, como portador de fármacos, o el área de la fotocatalisis (Zang *et al.*, 2010).

- De acuerdo a lo demás, el OG es un material con un gran potencial, que además puede obtenerse en grandes cantidades de forma relativamente sencilla.

### **3.8 ¿Qué son las zeolitas?**

Las zeolitas son cristales minerales de aluminosilicatos hidratados con cationes alcalinos o alcalino-térreos que tienen una alta capacidad de intercambio catiónico y de hidratación y deshidratación sin modificar su estructura porosa,

tridimensional, con canales internos. Por estas características, las zeolitas son minerales con la más amplia diversidad de usos, entre ellos el uso agronómico (Paredes *et al.*, 2013).

### 3.8.1 Características generales de las zeolitas

La zeolita es un mineral natural de origen volcánico de estructura cristalina (Figura 6). Está formada por silicio en forma de silicato combinado con átomos de oxígeno y aluminio en una estructura cristalina tridimensional rígida, que deja pequeñas cavidades interconectadas llamadas microporos, capaz de retener agua y nutrientes con carga positiva (cationes), como el nitrógeno amoniacal, potasio, calcio y magnesio que puede ir liberando a las plantas de una manera lenta y gradual.



Figura 6. a) Roca natural de zeolita, b) Zeolita molida a un tamaño de partícula de 3 mm y c) Zeolita molida a 0.50 mm.

La capacidad de retención de nutrientes y agua se debe a que el material tiene abundantes cargas negativas en la superficie y en los microtúneles internos y recibe el nombre de Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC). En agricultura la CIC de los suelos depende de su contenido de arcilla y materia orgánica y varía de 5 miliequivalentes por cada 100 g de suelo (m.e. /100 g), para suelos pobres hasta 40 m.e. /100 g para suelos con alta CIC. Los suelos fértiles de alta productividad, con buen potencial de retención de nutrientes y de humedad tienen valores de CIC

que promedian 25 m.e. /100 g. La zeolita clinoptilolita tiene una CIC de 150-200 m.e./100 g, la cual es hasta ocho veces más alta que los suelos agrícolas normales, por lo que su aplicación, mezclada con los fertilizantes o directa al suelo, mejora de manera sustancial su capacidad de retención y el aprovechamiento por las plantas, además de mejorar las condiciones físicas y biológicas de la capa arable (Vásquez *et al.*, 2014).

### **3.8.2 Uso de las zeolitas en la agricultura**

Las zeolitas se han utilizado cada vez más en diversas áreas de aplicación, tales como la industria, agricultura, protección del medio ambiente, e incluso en la medicina. Aunque, no hay ciertas cifras sobre la cantidad total de estos minerales del mundo, algunos países, por ejemplo, Cuba, EE.UU., Rusia, Japón, Italia, Sudáfrica, Hungría y Bulgaria, tienen importantes reservas y potenciales de producción. De acuerdo con informes recientes, el consumo total de zeolitas fue de 3.5 millones de toneladas de las cuales el 18% provienen de los recursos naturales y el resto son de productos sintéticos. Diferentes grupos de investigadores han reportado más de cuarenta tipos de zeolitas de origen natural, entre las más conocidas se encuentran los de tipo clinoptilolita, erionita, cabasita, heulandita, mordenita, y phillipsita. El más común para aplicaciones agrícolas es la clinoptilolita, ya que posee una alta absorción, intercambio catiónico, alta capacidad de catálisis y deshidratación. Por lo tanto, las zeolitas pueden utilizarse como un promotor de crecimiento en las plantas mejorando del valor nutrimental de los fertilizantes y retención del nitrógeno (Polat *et al.*, 2004).

Ozbahce *et al.* (2015) analizaron el efecto de diferentes dosis de zeolita (Z<sub>0</sub>: 0, Z<sub>3</sub>: 30, Z<sub>6</sub>: 60, Z<sub>9</sub>: 90, y Z<sub>12</sub>: 120 t ha<sup>-1</sup>) y agua (I<sub>50</sub>: 0.50, I<sub>75</sub>: 0.75, y I<sub>100</sub>: 1.00)

sobre el rendimiento, la calidad, y la absorción de nutrientes en el cultivo de frijol. Los resultados obtenidos en el análisis mostraron rendimientos mayores con 4.8 y 4.1 t ha<sup>-1</sup>, con el tratamiento Z9/I<sub>100</sub>. Además de esto, el nivel de nutrientes (N, K, Zn, Mn, y Cu) en muestras de hojas, mostraron un aumento con el incremento de dosis de zeolita y agua.

Por otra parte, De Campos *et al.* (2013), llevaron a cabo un experimento con el enriquecimiento de zeolita natural mediante la adición de KNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> y H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + apatita. Estos materiales fueron probados con porta injertos lima Rangpur y con cuatro cultivos (lechuga, tomate, arroz y pasto *Andropogon*) en el mismo sustrato. Los resultados indicaron que el N, P y K enriquecidos con zeolita tuvieron una liberación lenta para las plantas, aumentando en un 20% la producción agrícola y la calidad de los productos.

### **3.8.3 Zeolitas como biofertilizante**

La necesidad de fertilizantes de liberación lenta ha motivado una gran cantidad de investigaciones orientadas hacia la búsqueda de materiales que cuenten con la capacidad de liberar en forma controlada los nutrimentos en la rizósfera. Las características de las zeolitas, de alta capacidad de intercambio de cationes y de retención de humedad, y la gran disponibilidad a bajo costo, las convierten en materiales con posibilidad de ser utilizados para la elaboración de fertilizantes de liberación lenta (Eberl, 1993).

Uno de los tipos de zeolita que más se utiliza en la agricultura es la clinoptilolita, por su alta capacidad de intercambio catiónico, catálisis, hidratación y deshidratación. Se aplica en los cultivos para promover del crecimiento de las

plantas: retiene el nitrógeno y lo va liberando poco a poco, con lo que se mejora su efecto en las plantas (Polat *et al.*, 2004). La selectividad de la clinoptilolita por el amoníaco ha sido aprovechada en la preparación de fertilizantes químicos que tienden a mejorar la capacidad para atrapar el nitrógeno y promover la liberación más lenta de los iones de amonio a la solución del suelo (Morante, 2004).

La capacidad de intercambio iónico de la clinoptilolita, que le permite el lento desprendimiento de los nutrimentos, tales como Hierro (Fe), Cobre (Cu), Zinc (Zn), Magnesio (Mg) y Cobalto (Co) hacia la solución del suelo, y la habilidad de absorber el exceso de humedad, hacen de esta zeolita un excelente aditivo para los fertilizantes para prevenir su apelmazamiento y endurecimiento durante el almacenaje (Morante, 2004).

#### **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

Este trabajo experimental se realizó durante el periodo junio-julio del 2015, en un invernadero de media tecnología en el campo experimental del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), localizado al noreste de la ciudad de

Saltillo, Coahuila, con coordenadas geográficas 25°27' de Latitud Norte, 101°02' Longitud Oeste del meridiano de Greenwich y a una altitud de 1610 msnm.

Las soluciones con nanopartículas (óxido de grafeno, nanotubos de carbón, carbón mineral y grafito), fueron preparadas a concentraciones de 0, 100, 200 mg L<sup>-1</sup> en agua destilada y dispersadas con un sonicador Branson 2510, por 30 minutos (dos tiempos de 15 minutos) y se aplicó un mililitro por planta.

**Bioensayos I y II. Aplicación de nanopartículas de óxido de grafeno, grafito, nanotubos de carbón y carbón mineral a semillas de rábano, bajo condiciones de invernadero.**

Se utilizó semilla de rábano de la variedad Champion (Fax de Occidente S.A. DE C.V.), algunas de sus características son resistencia al frío, madurez fisiológica de 25 a 28 días y de color rojo intenso. Se contaron 160 semillas, las cuales se dividieron en cuatro repeticiones de 40 semillas cada una. Previo a la siembra, las semillas se trataron con las soluciones conteniendo NPs (Cuadro 1), en cajas Petri sobre papel filtro, y se dejaron imbibir durante dos horas.

Posterior al tratamiento, las semillas se sembraron (una semilla por cavidad) en charolas de poliestireno, de 200 cavidades, usando como sustrato peat moss de la marca Klasmann TS 4, el cual se humedeció previamente.

La caja se dividió y marcó en cuatro secciones, según correspondiera al tratamiento.

Cuadro 1. Bioensayos 1 y 2: aplicación de grafito, nanopartículas de óxido de grafeno, nanotubos de carbón y carbón mineral a semillas de rábano, bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	NP	Concentración (ppm)
--------------	----	---------------------

	T1	Agua	0
	T2	Óxido de grafeno	100
<b>Bioensayo I</b>	T3	Óxido de grafeno	200
	T4	Grafito	100
	T5	Grafito	200
	T1	Agua	0
	T2	Nanotubos de carbón	100
	T3	Nanotubos de carbón	200
<b>Bioensayo II</b>	T4	Carbón mineral	100
	T5	Carbón mineral	200

Ppm = partes por millón, NP= nanopartícula.

En ambos estudios la toma de datos se realizó semanalmente durante un periodo de tres semanas. La mediciones de altura de planta se realizó midiendo de la base de la planta hasta el ápice de la planta con una regla de 30 centímetros; el índice relativo de clorofila se realizó con un equipo portátil Minolta SPAD 502, se tomó una muestra foliar por planta; el número de hojas se realizó de manera visual; el diámetro de tallo se tomó con un Vernier digital y para determinar la biomasa fresca y la seca de hojas y de raíz se utilizó una balanza analítica.

**Bioensayo III. Aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de rábano (*Raphanus sativus* L.) var. Champion con dos tipos de sustratos, bajo condiciones de invernadero.**

Se prepararon dos mezclas diferentes de sustrato (70% peat moss + 30% perlita y 70% peat moss + 30% zeolita), posteriormente se realizó el llenado de las macetas

de plástico con una capacidad de cinco litros cada una, teniendo un total de 30 macetas.

Un día antes de la siembra, se saturó el sustrato con aproximadamente 800 ml de agua, posteriormente se sembraron cuatro semillas de rábano de la variedad Champion (Fax de Occidente S.A. DE C.V.) por maceta, se acomodaron al azar, en el interior de un invernadero. Enseguida se aplicó el primer riego con 20 ml de agua para conservar la humedad de cada maceta. La fertilización del cultivo se realizó cada cuatro días con 600 ml de solución nutritiva Hoagland modificada por maceta obteniendo un total de seis fertilizaciones en el desarrollo del cultivo.

Los tratamientos con NPs consistieron de óxido de grafeno (0, 100 y 200 ppm), la aplicación se realizó de manera manual, una vez por semana teniendo un total de cuatro aplicaciones en todo el desarrollo del cultivo, para su aplicación se utilizó un adherente comercial (Bionex) mediante aspersores de 20 ml de capacidad y se aplicó 1 ml de solución por planta.

#### **Bioensayo IV. Aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de rábano (*Raphanus sativus* L.) var. Champion con dos tipos de sustratos, bajo condiciones de invernadero.**

La metodología utilizada es similar al bioensayo anterior. Los tratamientos aplicados consistieron de dos sustratos (70% peat moss + 30% perlita y 70% peat moss + 30% zeolita) y de aplicaciones de nanotubos de carbono (0, 100 y 200 ppm).

Se evaluaron las variables altura de la planta, diámetro ecuatorial, diámetro longitudinal, área foliar (LI-COR modelo LI-300, Lincoln, Nebraska, USA), número de hojas, índice relativo de clorofila (Minolta SPAD 502), peso fresco bulbo, peso

fresco parte aérea, peso seco bulbo y peso seco parte aérea. Estas mediciones se realizaron al final del experimento.

#### **4.1 Análisis estadístico**

En los bioensayos uno y dos se utilizaron diseños completamente al azar con cinco tratamientos y 10 repeticiones cada uno. Por otra parte, los bioensayos tres y cuatro se establecieron completamente al azar con un arreglo factorial 2 x 3 con cinco repeticiones. En donde el factor A incluyó dos sustratos diferentes (con y sin zeolita) y el factor B los tratamientos con óxido de grafeno y nanotubos de carbón (0, 100 y 200 ppm). Para las variables fisiológicas se realizó un análisis de varianza (ANVA) y una prueba de rango múltiple de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), con el software estadístico JMP-SAS versión 5.0 (SAS Institute, 2002).

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Bioensayo I. Aplicación de grafito y nanopartículas de óxido de grafeno a semillas de rábano, bajo condiciones de invernadero.

En el presente bioensayo se planteó el objetivo de generar información sobre el efecto de las nanopartículas de óxido de grafeno, aplicados a semillas de *Raphanus sativus* L. var. Champion, bajo condiciones de invernadero. De acuerdo al análisis de varianza, se encontraron diferencias altamente significativas en la fuente de variación nanopartículas para las variables altura de planta y número de hojas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo I: aplicación de grafito y nanopartículas de óxido de grafeno a semillas de *Raphanus sativus* bajo condiciones de invernadero.

FV	GL	Altura de planta (cm)	IR clorofila (USpad)	Número de hojas	Diámetro tallo (mm)	Longitud raíz (cm)
NP	4	3.56 **	24.68 ns	2.53 **	0.18 ns	1.06 ns
Error	45	0.23	10.71	0.72	0.50	2.06
CV (%)		8.44	11.12	19.05	30.23	15.56

\*, \*\*= Significativo al 0.05 y al 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= No significativo, CV= Coeficiente de variación.

También se encontraron diferencias altamente significativas en la fuente de variación de nanopartícula, para las variables de biomasa aérea seca y fresca, y biomasa fresca y seca de raíz (Cuadro 3).

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo I: aplicación de grafito y nanopartículas de óxido de grafeno aplicadas a semillas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Biomasa aérea (g)</b>	<b>Biomasa aérea seca (g)</b>	<b>Biomasa raíz (g)</b>	<b>Biomasa seca raíz (g)</b>
<b>NP</b>	4	0.52 **	0.01000 **	0.04 **	0.000200 **
<b>Error</b>	45	0.03	0.00002	0.01	0.000002
<b>CV (%)</b>		22.67	19.91	35.31	38.18

\*, \*\*= Significativo al 0.05 y al 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= no significativo, CV= coeficiente de variación.

Al comparar las medias de las variables estudiadas (Cuadro 4), se encontró que las aplicaciones de nanopartículas de óxido de grafeno, modificó la expresión de algunas de las variables evaluadas, para la variable de altura de planta, el testigo presentó valores superiores, sobresaliendo al resto de los tratamientos y la variable número hojas presentó una media superior con la aplicación de grafito a 100 ppm. Por otro lado, las variables de índice relativo de clorofila, longitud de raíz y diámetro de tallo, no presentaron diferencias significativas.

Cuadro 4. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo I: aplicación de nanopartículas de óxido de grafeno y grafito a semillas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos de NPs (ppm)	Altura de planta (cm)	IR clorofila (USpad)	Número de hojas	Diámetro tallo (mm)	Longitud raíz (cm)
<b>Testigo (0)</b>	6.62 a	29.44 a	4.70 ab	2.42 a	9.6 a
<b>Grafito (100)</b>	5.37 bc	29.44 a	4.90 a	2.36 a	8.9 a
<b>Grafito (200)</b>	5.71 b	31.85 a	4.80 ab	2.43 a	9.3 a
<b>Óxido de grafeno (100)</b>	5.05 c	27.48 a	3.80 b	2.11 a	8.8 a
<b>Óxido de grafeno (200)</b>	5.93 b	28.97 a	4.00 ab	2.40 a	9.3 a
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	0.61	4.15	1.07	0.90	1.82

Valores con la misma literal en columnas no son significativos entre sí, NPs = nanopartículas, ppm = partes por millón, CV= coeficiente de variación.

Se encontró también que la variable biomasa de raíz (Cuadro 5), presentó una media superior con el tratamiento de 200 ppm de nanopartículas de óxido de grafeno, por otra parte, las variables biomasa aérea seca y fresca obtuvieron una media superior en el testigo, mientras que la variable biomasa seca de raíz presentó valores iguales con tres tratamientos: grafito 100 y 200 ppm, y óxido de grafeno a 100 ppm.

Cuadro 5. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo I: aplicación de grafito y nanopartículas de óxido de grafeno a semillas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos de NPs (ppm)	Biomasa aérea (g)	Biomasa seca aérea (g)	Biomasa raíz (g)	Biomasa seca raíz (g)
<b>Testigo (0)</b>	1.12 a	0.17 a	0.34 ab	0.01 b
<b>Grafito (100)</b>	0.66 b	0.14 b	0.23 b	0.03 a
<b>Grafito (200)</b>	0.65 b	0.13 bc	0.36 ab	0.03 a
<b>Óxido de grafeno (100)</b>	0.51 b	0.10 c	0.26 ab	0.03 a
<b>Óxido de grafeno (200)</b>	0.70 b	0.12 bc	0.39 a	0.01 b
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	0.21	0.03	0.14	0.01

Valores con la misma literal en columnas no son significativos entre sí, NPs = nanopartículas, ppm = partes por millón, CV= coeficiente de variación.

Los resultados obtenidos con la aplicación con nanopartículas de óxido de grafeno en rábano, presentaron un efecto negativo en la biomasa aérea, sin embargo en raíz hubo una respuesta diferente ya que se obtuvo mayor biomasa seca de raíz.

Los resultados son diferentes a lo reportado por Begum *et al.* 2011, donde dice que el grafeno, una nanopartícula similar al óxido de grafeno, al aplicar NPs de grafeno se obtiene un efecto inhibitorio en el crecimiento y la biomasa de cinco cultivos diferentes a comparación del testigo

En un trabajo realizado por Zhang *et al.* (2015), demostraron que las semillas tratadas con nanopartículas de grafeno germinaron mucho más rápido que las semillas del control, mientras que en la etapa de crecimiento, el grafeno fue capaz de penetrar las células de la punta de la raíz, teniendo menor acumulación de biomasa que el control, pero mayor en tallos y raíces a comparación del control, lo

que sugiere que el grafeno, en contraste con otras nanopartículas, tiene diferentes efectos sobre el crecimiento de plántulas.

### **Bioensayo II. Aplicación de nanotubos de carbón y carbón mineral a semillas de rábano, bajo condiciones de invernadero.**

En el presente estudio se planteó el objetivo de generar información sobre el efecto de los nanotubos de carbón (NTC), aplicados a semillas de *R. sativus* var. Champion, bajo condiciones de invernadero. De acuerdo al análisis de varianza (ANVA), se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ) en la fuente de variación nanopartícula para las variables altura de planta y longitud de raíz (Cuadro 6).

Las variables de índice relativo de clorofila, número de hojas y diámetro de tallo no presentaron diferencias estadísticas.

Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo II: aplicación de carbón mineral y nanotubos de carbón a semillas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Altura de planta (cm)</b>	<b>IR clorofila (USpad)</b>	<b>Número de hojas</b>	<b>Diámetro tallo (mm)</b>	<b>Longitud raíz (cm)</b>
<b>NP</b>	4	3.56 **	24.68 ns	2.53 ns	0.18 ns	5.10 *
<b>Error</b>	45	0.23	10.71	0.72	0.50	1.84
<b>CV (%)</b>		8.44	11.12	19.05	30.23	14.23

\*, \*\*= Significativo al 0.05 y al 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= No significativo, CV= Coeficiente de variación.

También se encontraron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) en la fuente de variación nanopartículas para las variables de biomasa aérea fresca y seca (Cuadro 7).

Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis bioensayo II: aplicación de carbón mineral y nanotubos de carbón a semillas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Biomasa aérea (g)</b>	<b>Biomasa aérea seca (g)</b>	<b>Biomasa raíz (g)</b>	<b>Biomasa seca raíz (g)</b>
<b>NP</b>	4	0.52 **	0.0080 **	0.03 ns	0.00010 ns
<b>Error</b>	45	0.03	0.0006	0.01	0.00007
<b>CV (%)</b>		22.67	20.54	30.32	60.10

\*, \*\*= Significativo al 0.05 y al 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= No significativo, CV= Coeficiente de variación.

Al comparar las medias de las variables estudiadas (Cuadro 8), se encontró que los nanotubos de carbón presentan diferencias en algunas de las variables evaluadas, la variable altura de planta correspondiente al testigo, presentó valores superiores en comparación de los demás tratamientos y la variable de longitud de raíz obtuvo una media superior con el tratamiento de carbón mineral a 200 ppm. Por otra parte, las variables índice relativo de clorofila, número de hojas y diámetro de tallo no presentaron diferencias estadísticas.

Cuadro 8. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo II: aplicación de carbón mineral y nanotubos de carbón a semillas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos de NPs (ppm)	Altura de planta (cm)	IR clorofila (USpad)	No. hojas	Diámetro tallo (mm)	Longitud raíz (cm)
<b>Testigo (0)</b>	6.62 a	29.44 a	4.70 a	2.42 a	9.66 ab
<b>Carbón mineral (100)</b>	5.69 b	30.54 a	4.70 a	2.09 a	9.64 ab
<b>Carbón mineral (200)</b>	5.25 b	29.62 a	4.80 a	2.40 a	10.30 a
<b>Nanotubos de carbón (100)</b>	5.75 b	29.55 a	4.90 a	2.06 a	9.70 ab
<b>Nanotubos de carbón (200)</b>	5.60 b	28.82 a	4.60 a	2.27 a	8.35 b
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	0.72	4.65	0.87	0.60	1.72

Valores con la misma literal en columnas no son significativos entre sí, NPs = nanopartículas, ppm = partes por millón, CV= coeficiente de variación.

Los resultados que se presentan en el Cuadro 9, corresponden a la comparación de medias de la aplicación de nanotubos de carbón a semillas de *R. sativus*, donde se aprecia que dos de las cuatro variables analizadas presentaron diferencias estadística, en cuanto a las variables de biomasa aérea fresca y seca presentaron una media superior en el testigo.

La variable de biomasa de raíz y biomasa seca de raíz no presentaron diferencias estadísticas.

Cuadro 9. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo II: aplicación de carbón mineral y nanotubos de carbón a semillas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos de NPs (ppm)	Biomasa aérea (g)	Biomasa aérea seca (g)	Biomasa raíz (g)	Biomasa seca raíz (g)
<b>Testigo (0)</b>	1.12 a	0.17 a	0.34 a	0.017 a
<b>Carbón mineral (100)</b>	0.94 ab	0.10 b	0.48 a	0.013 a
<b>Carbón mineral (200)</b>	0.88 ab	0.12 b	0.44 a	0.011 a
<b>Nanotubos de carbón (100)</b>	0.89 ab	0.12 b	0.48 a	0.021 a
<b>Nanotubos de carbón (200)</b>	0.81 b	0.10 b	0.40 a	0.012 a
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	0.27	0.03	0.16	0.01

Valores con la misma literal en columnas no son significativos entre sí, NPs = nanopartículas, ppm = partes por millón, CV= coeficiente de variación.

Los resultados obtenidos con nanotubos de carbón en rábano, coinciden con los reportado por Begum y Fugetsu (2012), quienes estudiaron la toxicidad y la influencia potencial de los nanotubos de carbono de pared múltiple en plantas de espinaca con la dosis de 1000 mg L<sup>-1</sup>. Los resultados obtenidos en este tipo de plantas presentaron una inhibición de crecimiento y la muerte celular después de 15 días de cultivo hidropónico. Por otra parte Lin y Xing (2007), indicaron que las plantas necesitan ser expuestas a nanopartículas para desarrollar toxicidad, para esto investigaron el efecto de cinco tipos de nanopartículas (nanotubos de carbono de pared múltiple, aluminio, alúmina, zinc y óxido de zinc) sobre la germinación y crecimiento de raíz de seis especies de plantas (rábano, violeta, *Lolium multiflorum*, lechuga, maíz y pepino), los resultados obtenidos indican que la germinación no se ve afectada excepto para el zinc a nanoescala en *Lolium multiflorum* y óxido de zinc

en el maíz en 2000 mg / L<sup>-1</sup>, la inhibición de crecimiento de las raíces varió mucho entre las nanopartículas y las plantas.

**Bioensayo III. Aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de *R. sativus* cultivados con dos tipos de sustratos bajo condiciones de invernadero.**

Con base en la información obtenida durante el desarrollo experimental se analizaron diez variables morfofisiológicas del cultivo de rábano en condiciones de invernadero. De acuerdo al análisis de varianza (ANVA), se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$  y  $0.01$ ) en la fuente de variación sustrato, las variables de índice relativo de clorofila y diámetro longitudinal; para la fuente de variación nanopartícula, fueron las variables altura, diámetro ecuatorial y longitudinal; y para la interacción sustrato por nanopartícula se encontraron diferencias para las variables diámetro ecuatorial y longitudinal (Cuadro 10).

Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo III: aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

FV	GL	Altura (cm)	IR clorofila (U Spad)	Diámetro ecuatorial (mm)	Diámetro longitudinal (mm)	Número de hojas
<b>Sustrato</b>	1	0.22ns	14.98*	24.98ns	945.85 *	0.03ns
<b>NP</b>	2	6.47**	4.10ns	145.94**	270.76**	2.91ns
<b>Sustrato*NP</b>	2	0.08ns	0.35ns	12.72**	4.53**	2.51ns
<b>Error</b>	24	0.98	2.86	16.18	49.85	1.13
<b>CV (%)</b>		8.79	5.37	18.65	17.93	11.34

\*, \*\*= Significativo al 0.05 y al 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= No significativo, CV= Coeficiente de variación, NP= nanopartícula.

También se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$  y  $0.01$ ) en la fuente de variación sustrato, las variables de peso fresco y seco del bulbo; para la fuente de variación nanopartículas fueron las variables área foliar, peso fresco y seco del bulbo y biomasa fresca y seca aérea; y por último en la interacción de sustrato por nanopartícula presentó las variables de peso fresco y seco del bulbo (Cuadro 11).

Cuadro 11. Cuadros medios del análisis de varianza del bioensayo III: aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

FV	GL	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Peso fresco bulbo (g)	Peso seco bulbo (g)	Biomasa fresca aérea (g)	Biomasa seca aérea (g)
Sustrato	1	4982.63ns	149.88**	0.61**	7.11ns	0.05
NP	2	39127.71**	258.65**	0.49**	98.83**	0.37*
Sustrato*NP	2	8471.84ns	15.20**	0.01**	25.81ns	0.16
Error	24	7553.13	23.24	0.06	23.84	0.11
CV (%)		25.14	41.23	39.06	28.14	29.24

\*, \*\*= Significativo al 0.05 y al 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= No significativo, CV= Coeficiente de variación, NP= nanopartícula.

En el Cuadro 12 se muestran la comparación de medias de las variables evaluadas de cada tratamiento. Se aprecia que de las cinco variables analizadas, cuatro de ellas fueron afectadas significativamente, apreciando que para la variable diámetro longitudinal se obtuvo una media superior en la mezcla de sustrato peat moss + zeolita, en contraste de la variable índice relativo de clorofila, que mostró mayor significancia con la mezcla compuesta por peat moss + perlita.

En la variable diámetro ecuatorial, se obtuvo un leve efecto inhibitorio al aplicar los tratamientos. Sin embargo, la variable altura de planta presentó un valor superior con la aplicación de 200 ppm de óxido de grafeno.

Dentro de la interacción sustrato por nanopartícula, las variables diámetro ecuatorial y longitudinal, mostraron diferencias significativas, principalmente en sustrato con zeolita y sin la aplicación de nanopartículas, ya que en este se obtuvieron promedios superiores a comparación del sustrato de perlita con 100 ppm de óxido de grafeno, el cual reportó valores promedio menores para todas las variables.

Cuadro 12. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo III: aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos de Sustrato/NPs	Altura de planta (cm)	IR clorofila (USpad)	Diámetro ecuatorial (mm)	Diámetro longitudinal (mm)	Número de hojas
70:30 (Pm:Per)	11.35 a	32.16 a	20.64 a	33.77 b	9.33 a
70:30 (Pm:Zeo)	11.18 a	30.74 b	20.47 a	45.00 a	9.40 a
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	0.74	1.27	3.03	5.32	0.80
0 ppm	11.25 ab	30.72 a	25.50 a	45.12 a	9.75 a
100 ppm	10.47 b	31.90 a	17.87 b	34.97 b	8.75 a
200 ppm	12.08 a	31.74 a	21.30 ab	38.05 ab	9.60 a
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	1.10	1.88	4.49	7.88	1.18
(0 NPs+pm:per)	11.37 a	31.48 a	25.56 a	40.28 abc	10.20 a
(0 NPs+pm:zeo)	11.12 a	29.96 a	25.44 a	49.96 a	9.30 a
(100 ppm+pm:per)	10.46 a	32.76 a	17.22 b	28.98 c	8.20 a
(100 ppm)+pm:zeo)	10.49 a	31.04 a	18.52 ab	40.97 abc	9.30 a
(200 ppm+pm:per)	12.23 a	32.24 a	19.15 ab	32.04 bc	9.60 a
(200 ppm+pm:zeo)	11.93 a	31.24 a	23.45 ab	44.07 ab	9.60 a
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	1.93	3.30	7.86	13.80	2.07

Valores con la misma literal en columnas no son significativos entre sí, Pm = peat moss, Per = perlita, Zeo = zeolita, NPs = nanopartículas, ppm = partes por millón, IR = Índice relativo.

Los valores promedio de las variables evaluadas se muestran en el Cuadro 13. Los resultados obtenidos entre los sustratos, se observa que las variables peso fresco y peso seco de bulbo presentaron una media superior en la mezcla de peat moss + zeolita, en comparación de la mezcla de peat moss + perlita, la cual presentaron medias inferiores.

En la aplicación de nanopartículas de óxido de grafeno, al comparar las medias de los tratamientos, se observó que el testigo presentó valores superiores en todas las

variables, a excepción del tratamiento de óxido de grafeno a 100 ppm, el cual presentó una inhibición para las cinco variables.

En la interacción sustrato por nanopartícula, las variables peso fresco y peso seco del bulbo, se observó que el sustrato con zeolita y sin aplicación de nanopartículas de óxido de grafeno, presentaron mejores medias entre los tratamientos. Por otra parte, las variables biomasa aérea fresca y seca, obtuvieron medias superiores con el sustrato de perlita sin la aplicación de nanopartículas de óxido de grafeno.

Cuadro 13. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo III: aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos de Sustrato/NPs	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Peso fresco bulbo (g)	Peso seco bulbo (g)	Biomasa fresca aérea (g)	Biomasa seca aérea (g)
70:30 (pm:per)	332.74 a	9.45 b	0.49 b	16.86 a	1.08 a
70:30 (pm:zeo)	358.51 a	13.92 a	0.78 a	17.83 a	1.17 a
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	65.49	3.63	0.18	3.67	0.24
0 ppm	393.65 a	17.17 a	0.87 a	19.44 a	1.26 a
100 ppm	274.89 b	7.11 b	0.42 b	13.73 b	0.90 ab
200 ppm	368.34 ab	10.79 b	0.61 ab	18.86 ab	1.20 b
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	97.06	5.38	0.27	5.45	0.36
(0 NPs+pm:per)	414.37 a	15.68 ab	0.74 abc	20.78 a	1.36 a
(0 NPs+pm:zeo)	372.93 a	18.65 a	0.99 a	18.09 a	1.16 a
(100 ppm+pm:per)	245.30 a	5.56 c	0.30 c	12.07 a	0.77 a
(100 ppm+pm:zeo)	304.48 a	8.67 bc	0.55 abc	15.38 a	1.04 a
(200 ppm+pm:per)	338.54 a	7.13 bc	0.44 bc	17.71 a	1.11 a
(200 ppm+pm:zeo)	398.13 a	14.44 abc	0.79 ab	20.02 a	1.29 a
<b>Tukey (P≤0.05)</b>	169.95	9.42	0.48	9.54	0.64

Valores con la misma literal en columnas no son significativos entre sí, Pm = peat moss, Per = perlita, Zeo = zeolita, NPs = nanopartículas, ppm = partes por millón, IR = Índice relativo.

De acuerdo a los resultados encontrados en el estudio de la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno cultivados en sustratos con mezclas de v/v proporcionales de peat moss y zeolita, en plantas de *R. sativus*, se pudo observar que el empleo de sustratos a base de zeolita propició un mejor desarrollo en algunas de las variables morfológicas evaluadas, esto debido a las propiedades físicas y químicas de las zeolitas, siendo esto similar a estudios conducidos por Noori et al. (2006), ya que demostraron que el uso de zeolita de tipo clinoptilolita puede mejorar la calidad del suelo y aumentar el rendimiento del cultivo de rábano,

además de retener sales perjudiciales para el cultivo, ya que estas no logran pasar por las raíces hasta el dosel de las plantas. Por otra parte Gruener *et al.* (2007), argumentan sobre un sustrato sintético a base de zeolita y como este es capaz de estar presente en la productividad a largo plazo en el cultivo de rábano.

Considerando los datos recabados en el estudio de la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de grafeno a plántulas de rábano, se pudo apreciar que las concentraciones aplicadas no favorecen al crecimiento y producción de biomasa, ya que pueden llegar a tener un efecto inhibitorio. Los resultados coinciden con los reportados por Hu *et al.* (2014), demostraron que el óxido de grafeno (OG) amplifica enormemente la fitotoxicidad del arsénico (As), un contaminante en el trigo. Al comparar los tratamientos de As más OG y OG solo, se observó que estos inhiben el metabolismo de los hidratos de carbono, aminoácidos y se rompen los metabolismos del ciclo de la urea y de los ácidos grasos. También se observó el cotransporte de la carga de OG y la transformación del As (III) a As (IV), es decir, que en la generación de dimetilarsinato que es producida por la desintoxicación inorgánica del As es inhibida por el OG en las plantas. El OG también regula la expresión del gen transportador del fosfato y la actividad de la reductasa arseniato para influir en la absorción y transformación del As. Por lo tanto, los efectos del OG son dependientes de la concentración. Dada la exposición generalizada al igual que en la agricultura, la nanotoxicidad indirecta del OG debe ser considerado cuidadosamente en la seguridad alimentaria.

**Bioensayo IV. Aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de *R. sativus* cultivados en dos tipos de sustratos, bajo condiciones de invernadero.**

Los datos obtenidos con la aplicación foliar de nanotubos de carbón (NTC), permitió analizar diez variables morfofisiológicas del cultivo de rábano. De acuerdo al análisis de varianza (ANVA), no se encontraron diferencias significativas en los tratamientos de estudio (Cuadro 14).

Cuadro 14. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo IV: aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Altura de planta (cm)</b>	<b>IR clorofila (U Spad)</b>	<b>Diámetro ecuatorial (mm)</b>	<b>Diámetro longitudinal (mm)</b>	<b>Número de hojas</b>
<b>Sustrato</b>	1	4.42ns	28.23ns	18.35ns	216.22ns	0.53ns
<b>NP</b>	2	0.89ns	30.59ns	0.48ns	12.36ns	0.53ns
<b>Sustrato*NP</b>	2	1.55ns	39.53ns	95.46ns	112.77ns	0.93ns
<b>Error</b>	24	3.30	28.89	37.90	77.53	0.68
<b>CV (%)</b>		15.67	15.18	27.53	21.86	9.12

\*, \*\*= Significativo al 0.05 y al 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= No significativo, CV= Coeficiente de variación, NP= nanopartícula.

También se encontraron diferencias altamente significativas para la fuente de variación de sustrato por nanopartícula para las variables peso fresco y seco de bulbo y biomasa aérea fresca (Cuadro 15). Las variables área foliar y biomasa aérea seca no presentaron diferencias estadísticas.

Cuadro 15. Cuadrados medios del análisis de varianza del bioensayo IV: aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Área foliar (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Peso fresco bulbo (g)</b>	<b>Peso seco bulbo (g)</b>	<b>Biomasa fresca aérea (g)</b>	<b>Biomasa seca aérea (g)</b>
<b>Sustrato</b>	1	14323.11ns	39.80ns	0.01ns	3.99ns	0.05ns
<b>NP</b>	2	324.72ns	14.98ns	0.26ns	14.71ns	0.02ns
<b>Sustrato*NP</b>	2	45360.61ns	102.79**	0.57**	122.19**	0.49ns
<b>Error</b>	24	10623.26	27.82	0.13	35.27	0.15
<b>CV (%)</b>		26.53	48.56	50.85	29.82	29.47

\*, \*\*= Significativo al 0.05 y al 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= No significativo, CV= Coeficiente de variación, NP= nanopartícula.

Los valores promedio de las variables evaluadas en los diferentes tratamientos, aplicados foliarmente con nanopartículas de nanotubos de carbón (NTC), se muestran en la Cuadro 16. Destaca que numéricamente existen diferencias entre tratamientos, ya que entre sustratos, se observó para las variables altura de planta, diámetro ecuatorial y diámetro longitudinal, una respuesta positiva, al sustrato con zeolita, por otra parte el índice relativo de clorofila y el número de hojas respondió positivamente al sustrato con perlita.

En cuanto al tratamiento con nanopartículas, se observó que las variables altura de planta, índice relativo de clorofila y el número de hojas presentaron una respuesta positiva a 100 ppm de NTC y reportaron promedios superiores a los demás tratamientos. Por otro lado las variables diámetro ecuatorial y longitudinal se vieron favorecidas con la concentración de 200 ppm de NTC.

En la interacción sustrato por nanopartícula, las variables altura de planta y diámetro ecuatorial, respondieron positivamente al sustrato con zeolita y 100 ppm de NTC; por otra parte, la variable índice relativo de clorofila se vio favorecida con

el sustrato de perlita y a 100 ppm de NTC; mientras que la variable diámetro longitudinal se favoreció con la combinación de zeolita y 200 ppm de NTC y el aumento del número de hojas con el sustrato de perlita sin aplicación de NTC.

Cuadro 16. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo IV: aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos de Sustrato/NPs	Altura de planta (cm)	IR clorofila (U Spad)	Diámetro ecuatorial (mm)	Diámetro longitudinal (mm)	Número de hojas
70:30 (pm:per)	11.20 a	36.37 a	21.58 a	37.59 a	9.20 a
70:30 (pm:zeo)	11.97 a	34.43 a	23.14 a	42.95 a	8.93 a
<b>Tukey (P≤ 0.05)</b>	1.36	4.05	4.63	6.63	0.62
0	11.30 a	34.30 a	22.24 a	40.03 a	9.20 a
100	11.90 a	37.42 a	22.22 a	39.30 a	9.20 a
200	11.56 a	34.49 a	22.61 a	41.48 a	8.80 a
<b>Tukey (P≤ 0.05)</b>	2.02	6.00	6.87	9.83	0.92
(0 NPs+pm:per)	11.37 a	35.14 a	24.56 a	40.98 a	9.60 a
(0 NPs+pm:zeo)	11.23 a	33.46 a	19.92 a	39.08 a	8.80 a
(100 ppm+pm:per)	11.24 a	40.44 a	18.37 a	35.97 a	9.40 a
(100 ppm+pm:zeo)	12.55 a	34.40 a	26.08 a	42.63 a	9.00 a
(200 ppm+pm:per)	10.99 a	33.54 a	21.80 a	35.81 a	8.60 a
(200 ppm+pm:zeo)	12.12 a	35.44 a	23.43 a	47.16 a	9.00 a
<b>Tukey (P≤ 0.05)</b>	3.55	10.51	12.03	17.21	1.61

Valores con la misma literal en columnas no son significativos entre sí, Pm = peat moss, Per = perlita, Zeo = zeolita, NPs = nanopartículas, ppm = partes por millón, IR = Índice relativo.

Los valores promedio de las variables evaluadas, con tratamientos de nanotubos de carbón (NTC), se muestran en el Cuadro 17. Destacando que numéricamente, existen diferencias entre tratamientos, ya que entre sustratos se observó para las

variables área foliar, peso fresco y seco de bulbo, y biomasa fresca y seca aérea, obtuvieron una respuesta positiva, al sustrato con zeolita.

En cuanto al tratamiento con nanopartículas cuales, no presentaron diferencias estadísticas, se observó que las variables área foliar, peso fresco del bulbo, biomasa fresca y seca aérea, obtuvieron una respuesta positiva con el tratamiento de NTC con 200 ppm. Por otra parte, la variable peso seco del bulbo, obtuvo el mejor promedio sin aplicación de NTC.

En la interacción sustrato por nanopartícula, las variables peso fresco del bulbo y biomasa fresca aérea, respondieron positivamente al sustrato con zeolita combinado con NTC y 200 ppm. Sin embargo, las variables área foliar y biomasa seca aérea, no presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos, numéricamente se destaca que la combinación de 200 ppm de nanotubos de carbón más zeolita, se obtiene una respuesta positiva. Por otra parte, la variable peso seco de bulbo presentó mejor comportamiento con el sustrato perlita sin la aplicación de NTC.

Cuadro 17. Comparación de medias del análisis de varianza del bioensayo IV: aplicación foliar de nanotubos de carbón a plántulas de *R. sativus* bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos de Sustrato/NPs	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Peso fresco bulbo (g)	Peso seco bulbo (g)	biomasa fresca aérea (g)	Biomasa seca aérea (g)
70:30 (pm:per)	365.13 a	9.70 a	0.69 a	19.55 a	1.28 a
70:30 (pm:zeo)	408.83 a	12.01 a	0.71 a	20.28 a	1.37 a
<b>Tukey (p≤0.05)</b>	77.67	3.97	0.26	4.47	0.29
0	386.01 a	10.39 a	0.88 a	19.75 a	1.33 a
100	381.83 a	9.94 a	0.58 a	18.79 a	1.28 a
200	393.10 a	12.25 a	0.63 a	21.20 a	1.37 a
<b>Tukey (p≤0.05)</b>	115.10	5.89	0.39	6.63	0.43
(0 NPs+pm:per)	441.93 a	12.90 ab	1.14 a	23.18 ab	1.54 a
(0 NPs+pm:zeo)	330.09 a	7.88 ab	0.63 ab	16.33 b	1.12 a
(100 ppm+pm:per)	321.69 a	6.48 b	0.39 b	17.73 ab	1.13 a
(100 ppm+pm:zeo)	441.96 a	13.39 a	0.78 ab	19.85 ab	1.43 a
(200 ppm+pm:per)	331.77 a	9.73 ab	0.53 ab	17.74 ab	1.18 a
(200 ppm+pm:zeo)	454.43 a	14.76 a	0.73 ab	24.66 a	1.56 a
<b>Tukey (p≤0.05)</b>	201.55	10.31	0.70	11.61	0.76

Valores con la misma literal en columnas no son significativos entre sí, Pm = peat moss, Per = perlita, Zeo = zeolita, NPs = nanopartículas, ppm = partes por millón, IR = Índice relativo.

Anicua *et al.* (2009) en su reporte mencionan que la selección de sustratos se basa en la capacidad de retención de humedad y drenaje y demostraron que la forma, tamaño, empaquetamiento, porosidad interna y externa de las partículas determinan las propiedades físicas del sustrato, propiedades que varían con el tamaño de la partícula y que difieren en la capacidad de retención y movimiento del agua. Por otro lado, Filcheva y Tsadilas (2002) evaluaron la influencia que tiene

la incorporación de la zeolita al suelo y los resultados mostraron que la zeolita aumenta el pH y potasio intercambiable (K) del suelo. Se ha señalado que el intercambio de cationes, la adsorción, la hidratación-deshidratación, y propiedades catalíticas de las zeolitas naturales han promovido su uso en procesos agrícolas como mejoramiento del suelo, fertilizantes de liberación lenta, y otros materiales (Kavoosi, 2007).

De acuerdo a los resultados obtenidos con la aplicación foliar de nanotubos de carbón a plantas de rábano, se puede apreciar que no hubo efecto significativo, numéricamente se observa que para algunas de las variables se obtuvieron pequeños cambios. Khodakovskaya *et al.* (2009) indican que la germinación aumenta en medios que contiene nanotubos de carbón (10-40  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) en comparación con el control. Los métodos de análisis indicaron que los nanotubos de carbono son capaces de penetrar la cubierta de la semilla gruesa y apoyar a la absorción de agua dentro de las semillas, un proceso que puede afectar a la germinación de semillas y crecimiento de las plántulas de tomate.

## VI. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en los bioensayos nos permiten concluir que la aplicación de NPs de óxido de grafeno a 100 ppm y grafito a 100 y 200 ppm en semillas de rábano de la variedad Champion, pueden inducir mayor acumulación de biomasa seca de raíz. Por otro lado, al aplicar carbón mineral a 200 ppm en semillas de rábano, se induce a una mayor longitud de raíz.

Los resultados obtenidos en la aplicación foliar de NPs de óxido de grafeno, cultivados en sustratos zeolíticos, nos permiten concluir que no existe sinergia, pero al aplicar foliarmente NPs de óxido de grafeno a 200 ppm, por sí solas, se obtiene mayor crecimiento en las plantas de rábano.

Por otra parte, los resultados obtenidos en la aplicación foliar de nanotubos de carbón cultivados en sustratos zeolíticos, nos permite concluir que si existe sinergia, demostrando que al aplicar nanotubos de carbón a 100 y 200 ppm con zeolita se obtiene mayor peso fresco de bulbo y mayor peso fresco de la parte aérea.

## VII. LITERATURA CITADA

- Ajayan, P. M., and Zhou, O. Z. 2001. Applications of carbon nanotubes. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 80, 391-425
- Alam, M.N., Roy, N., Mandal, D. and Begum, N.A. 2013. Green chemistry for nanochemistry: exploring medicinal plants for the biogenic synthesis of metal NPs with fine-tuned properties. RSC Adv., 3: 11935-11956.
- Anicua Sánchez, R., Gutiérrez Castorena, M. D. C., Sánchez García, P., Ortiz Solorio, C., Volke Halle, V. H., and Rubiños Panta, J. E. 2009. Particle size and micromorphological relation on physical properties of perlite and zeolite. Agricultura Técnica en México, 35(2), 147-156.
- Anjum, N. A., Singh, N., Singh, M. K., Sayeed, I., Duarte, A. C., Pereira, E., and Ahmad, I. 2014. Single-bilayer graphene oxide sheet impacts and underlying potential mechanism assessment in germinating faba bean (*Vicia faba* L.). Science of the Total Environment. 472, 834-841.
- Anwunobi, A.P. and Emeje, M.O. 2011. Recent application of natural polymers in nanodrug delivery. Nanomedicine and Nanotechnology. 4(2), 2157-7439
- Aslani, F., Bagheri, S., Muhd Julkapli, N., Juraimi, A. S., Hashemi, F. S. G., and Baghdadi, A. 2014. Effects of engineered nanomaterials on plants growth: an overview. The Scientific World Journal, 1, pp. 28.
- Begum, N., Sharma, B and Pandey, R.S. 2010. Evaluation of insecticidal efficacy of *Calotropis procera* and *Annona squamosa* ethanol extracts against *Musca domestica*. Journal of Biofertilizers and Biopesticides. 1: 101-109.

- Begum, P., and Fugetsu, B. 2012. Phytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes on red spinach (*Amaranthus tricolor* L) and the role of ascorbic acid as an antioxidant. *Journal of hazardous materials*. 243, 212-222.
- Begum, P., Ikhtiari, R., and Fugetsu, B. 2011. Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach, and lettuce. *Carbon*. 49(12), 3907-3919.
- Betancourt, R. Reyes, P.Y., Puente, B., Ávila-Orta, C., Rodriguez, O., Cadenas, G., Lira-Saldivar, R.H. and Garcia-Cerda, L.A. 2013. Synthesis of copper nanoparticles by thermal decomposition and their antimicrobial properties. *Journal of Nanomaterials*, 1, 980545, pp. 5.  
[http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/5/2013/anuales/anu\\_1070-6-2014-05-1.pdf](http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/5/2013/anuales/anu_1070-6-2014-05-1.pdf) (citado: 21/03/2016)
- Castillo, P. V. 2013. Investigación en nanotecnología se aplica en distintas áreas del conocimiento. *Investiga. TEC*, 16(16), 14-15.
- Chang, Y. N., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., and Xing, G. 2012. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials*, 5(12), 2850-2871.
- Chávez, A. G., and Patiño, A. T. 2009. Las nanotecnologías: un paradigma tecnológico emergente: Dinámica y especialización en la innovación de las tecnologías. *Razón y Palabra*, (68), 7.
- Chen, D., Feng, H., and Li, J. 2012. Graphene oxide: preparation, functionalization, and electrochemical applications. *Chemical reviews*, 112(11), 6027-6053.
- Chinnamuthu, C. R., and Boopathi, P. M. 2009. Nanotechnology and agroecosystem. *Madras Agricultural Journal*, 96(1-6), 17-31

- Chithrani, D: Arezou, A. and Chan, W.C.W. 2006. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Letters*, 6: 662–668.
- Cioffi, N., Torsi, L., Ditaranto, N., Tantillo, G., Ghibelli, L., Sabbatini, L., D'Alessio, M., Zambonin, P.G and Traversa, E. 2005. Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. *Chem. Mater.* 17: 5255-5262.
- Corredor, E., Testillano, P.S, Rubiales, D., Pérez-de-Luque, A. and M.C. Risueño. 2009. Nanoparticle penetration and transport in living pumpkin plants: in situ subcellular identification. *BMC Plant Biology*, 9: 45-50.
- De Campos Bernardi, A. C., Oliviera, P. P. A., de Melo Monte, M. B., and Souza-Barros, F. 2013. Brazilian sedimentary zeolite use in agriculture. *Microporous and Mesoporous Materials*, 167, 16-21.
- Dietz, K. J., and Herth, S. 2011. Plant nanotoxicology. *Trends in plant science*, 16 (11), 582-589.
- Eberl, D. D. 1993. Controlled-release fertilizers using zeolites. *US Department of the Interior US Geological Survey*, 93, 49-50.
- Eda, G., Fanchini, G., and Chhowalla, M. 2008. Large-area ultrathin films of reduced graphene oxide as a transparent and flexible electronic material. *Nature nanotechnology*, 3(5), 270-274.
- Eizagirr, J. C. 2012. La nanotecnología en la industria alimentaria. *Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria. ELIKA.*  
[http://www.elika.eus/datos/articulos/Archivo993/Art%C3%ADculo\\_nanotecnolog%C3%ADa%20alimentaria.pdf](http://www.elika.eus/datos/articulos/Archivo993/Art%C3%ADculo_nanotecnolog%C3%ADa%20alimentaria.pdf) (citado: 16/04/2016)

- El-bendary, H. M., and El-Helaly, A. A. 2013. First record nanotechnology in agricultural: Silica nano-particles a potential new insecticide for pest control. Applied Science Reports, E-ISBN, 2310-940.
- Filcheva, E. G., and Tsadilas, C. D. 2002. Influence of clinoptilolite and compost on soil properties. Communications in soil science and plant analysis. 33(3-4), 595-607.
- Ghormade, V., Deshpande, M.V. and Paknikar, K.M. 2011. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. Biotechnology Advances, 29: 792–803.
- Gogotsi, Y, 2006. Nanomaterials Handbook. Ed. Gogotsi Y., New York, pp. 105
- Grillo, R., dos Santos, N. Z. P., Maruyama, C. R., Rosa, A. H., de Lima, R., and Fraceto, L. F. 2012. Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules as carrier systems for herbicides: Physico-chemical characterization and genotoxicity evaluation. Journal of hazardous materials, 231, 1-9
- Gruener, J. E., Ming, D. W., Galindo, C., Henderson, K. E., and Golden, D. C. 2007. Plant productivity and characterization of zeoponic substrates after three successive crops of radish (*Raphanus sativus* L.). Microporous and Mesoporous Materials. 105(3), 279-284.
- Gutiérrez González, L., Hernández Jiménez, M. J., y Molina Borchert, L. 2013. Daños para la salud tras exposición laboral a nanopartículas. Medicina y Seguridad del Trabajo, 59(231), 276-296.
- Gutiérrez, B. J. A., Meléndez, A. L., Liñan C., Y. R., y López, D. A. L. 2015. La nanotecnología a 40 años de su aparición: Logros y tendencias. Ingenierías. 18(66), 2.

- Hernández, V. A., Lezama, Z. R., Márquez, M. I., Prado, D. A. y Utrera, L.S. 2014. Uso de zeolita para reducir costos de fertilización química en la agricultura. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Golfo Centro. México.
- Hu, W., Peng, C., Luo, W., Lv, M., Li, X., Li, D., and Fan, C. 2010. Graphene-based antibacterial paper. *Acs Nano*, 4(7), 4317-4323.
- Hu, X., Kang, J., Lu, K., Zhou, R., Mu, L., and Zhou, Q. 2014. Graphene oxide amplifies the phytotoxicity of arsenic in wheat. *Scientific reports*. 4, 1-10.
- Karunaratne, D.N. 2007. Nanotechnology in medicine. *J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka*, 35: 149-152.
- Kavoosi, M. 2007. Effects of zeolite application on rice yield, nitrogen recovery, and nitrogen use efficiency. *Communications in soil science and plant analysis*. 38(1-2), 69-76.
- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., and Biris, A. S. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS nano*, 3(10), 3221-3227.
- Klingeler, R. and Sim, R.B. 2001. *Carbon Nanotubes for Biomedical Applications*. 1<sup>st</sup> ed., Germany: Springer-Verlag.
- Kumara, V.G., Gokavarapu, S.D., Rajeswari, A., Dhasa, T.S., Karthicka, V., Barathy, I.A., Roy, A., and Sinha, S. 2011. Facile green synthesis of gold nanoparticles using leaf extract of antidiabetic potent *Cassia auriculata*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 87: 159–163.

- Kvitek, L., Vanickova, M., Panacek, A., Soukupova, J., Milde, D. and Zboril, R. 2009. Initial study on the toxicity of silver nanoparticles against *Paramecium caudatum*. J. Phys. Chem. C, 113:4296–4300.
- Laware, S. L., and Raskar, S. 2014. Influence of Zinc Oxide Nanoparticles on Growth, Flowering and Seed Productivity in Onion. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 3(7), 874-881.
- Lerf, A., Buchsteiner, A., Pieper, J., Schöttl, S., Dekany, I., Szabo, T., and Boehm, H. P. 2006. Hydration behavior and dynamics of water molecules in graphite oxide. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 67(5), 1106-1110.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., and Kolmakov, A. 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. Science of the Total Environment, 408(16), 3053-3061.
- Malek, N. A. N. N., Hamzah, N. S., Dzkulfli, N. H., Abdullah, W. M. M. W., and Hamdan, S. 2014. Effect of Natural Zeolite (Clinoptilolite) and Urea on the Growth of *Amaranthus gangeticus*, *Clinachantus nutans* and *Capsicum annum*. Jurnal Teknologi, 68, 2180–3722.
- Melesio, P. R., Ramírez, M.A., Ceja, O. E. S., Gómez, A. P. y Bueno, M. A. 2013. Zeolita natural: Alternativa ecológica y económica para la agricultura de temporal en México. 1ª edic. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. 4 pp.
- Morante Carballo, F. E. 2004. Las zeolitas de la costa de Ecuador (Guayaquil): Geología, caracterización y aplicaciones (Doctoral dissertation, Minas).

- Noori, M., Zendehtdel, M., and Ahmadi, A. 2006. Using natural zeolite for the improvement of soil salinity and crop yield. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 88:1. 77-84
- Ocsoy, I., Paret, M. L., Ocsoy, M. A., Kunwar, S., Chen, T., You, M., and Tan, W. 2013. Nanotechnology in plant disease management: DNA-directed silver nanoparticles on graphene oxide as an antibacterial against *Xanthomonas perforans*. *Acs Nano*, 7(10), 8972-8980.
- Ozbahce, A., Tari, A. F., Gönülal, E., Simsekli, N., and Padem, H. 2015. The effect of zeolite applications on yield components and nutrient uptake of common bean under water stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 61(5), 615-626.
- Panwar, J., Jain, N., Bhargaya, A., Akhtar, M. S., and Yun, Y. S. 2012. Positive effect of zinc oxide nanoparticles on tomato plants: A step towards developing “Nanofertilizers” 01/2012. In *Proceeding of 3rd International Conference on Environmental Research and Technology (ICERT)*.
- Pérez-de-Luque A. and Rubiales, D. 2009. Nanotechnology for parasitic plant control. *Pest Management Science Journal*, 65 (5): 540–545.
- Polat, A., Karaca, M., Demir, H. and Onus, N. 2004. Use of natural zeolite (Clinoptilolite) in agriculture. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 12(1).183-189.
- Prasad, R., Kumar, V., and Prasad, K. S. 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. *African Journal of Biotechnology*, 13(6), 705-713.

- Pumariega, R. B. H., Cristiá, R. B. P., Mullings, Á. O. H., y Carrillo, A. C. 2009. Nanotecnología: desarrollo y estado actual del conocimiento. ANUARIO CIENTÍFICO CECMED, 5.
- Quintili, M. 2012. Nanociencia y Nanotecnología, un mundo pequeño. Cuad. Cent. Estud. Diseño Comun., Ens., 42:125-155.
- Raliya, R., and Tarafdar, J. C. 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in Clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). Agricultural Research, 2(1), 48-57.
- Rameshaiah, G. N., and JPallavi, S. 2015. Nano fertilizers and nano sensors—an attempt for developing smart agriculture. International Journal of Engineering Research and General Science. 3(1), 314-320.
- Ruiz, O. N., Fernando, K. S., Wang, B., Brown, N. A., Luo, P. G., McNamara, N. D., and Bunker, C. E. 2011. Graphene oxide: a nonspecific enhancer of cellular growth. ACS nano, 5(10), 8100-8107.
- Salama, H. M. H. 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). Int. Res. J. Biotech, 3(10), 190-197.
- Salamanca-Buentello, F., Persad, D. L., Martin, D. K., Daar, A. S., and Singer, P. A. 2005. Nanotechnology and the developing world. PLoS Medicine, 2(5). 300-303.
- Sarlak, N., Taherifar, A., and Salehi, F. 2014. Synthesis of Nanopesticides by Encapsulating Pesticide Nanoparticles Using Functionalized Carbon Nanotubes and Application of New Nanocomposite for Plant Disease Treatment. Journal of agricultural and food chemistry, 62(21), 4833-4838.

- SAS Institute Inc., JMP®. Administrator's Guide to Annually Licensed Windows and Macintosh Versions. Versions 5. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.
- Schreiber, L. (2010). Transport barriers made of cutin, suberin and associated waxes. *Trends in plant science*, 15(10), 546-553.
- Serena, P. A. 2011. Guía específica de trabajo sobre la nanotecnología para la alimentación y el consumo. Fundación San Patricio. Investiga IDI. <http://www.fundacionsanpatricio.com/investiga/pdf/guias2011/GUIANANOTECNOLOGIAPARALAALIMENTACIONYELCONSUMO.pdf> (citado: 16/04/2016).
- Servin, A., Elmer, W., Mukherjee, A., De la Torre-Roche, R., Hamdi, H., White, J. C., and Dimkpa, C. 2015. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(2), 1-21.
- Susha, V. S., Chinnamuthu, C. R., and Pandian, K. 2008). Remediation of herbicide Atrazine through metal nano particle. In *International Conference on Magnetic Materials and their Applications in the 21st Century*.
- Tarafdar, J. C., Xiang, Y., Wang, W. N., Dong, Q., and Biswas, P. 2012. Standardization of size, shape and concentration of nanoparticle for plant application. *Applied Biological Research*, 14(2), 138-144.
- Torabian, S., Zahedi, M., and Khoshgoftar, A. H. 2015. Effects of Foliar Spray of Two Kinds of Zinc Oxide on the Growth and Ion Concentration of Sunflower Cultivars under Salt Stress. *Journal of Plant Nutrition*. 39(2), 172-180.
- Uribe, G. M., and López, J. L. R. 2007. La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Revista Perfiles Latinoamericanos*, 14(29), 161-186.

- Wang, L., Li, X., Zhang, G., Dong, J., and Eastoe, J. 2007. Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. *Journal of Colloid and Interface Science*, 314(1), 230-235.
- Zhang, H., Lv, X., Li, Y., Wang, Y., and Li, J. 2009. P25-graphene composite as a high performance photocatalyst. *ACS nano*, 4(1), 380-386.
- Zhang, M., Gao, B., Chen, J., and Li, Y. 2015. Effects of graphene on seed germination and seedling growth. *Journal of Nanoparticle Research*. 17(2), 1-8.