

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Micromorfología de Tallo y Raíz de Plantas de Maíz y Frijol Tratadas con Nanopartículas de Titanio, Hierro y Zinc, Bajo Invernadero

Por:

**LUIS ALBERTO MARTÍNEZ RODRÍGUEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Saltillo, Coahuila, México  
Junio, 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Micromorfología de Tallo y Raíz de Plantas de Maíz y Frijol  
Tratadas con Nanopartículas de Titanio, Hierro y Zinc, Bajo  
Invernadero

Por:

**LUIS ALBERTO MARTÍNEZ RODRÍGUEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

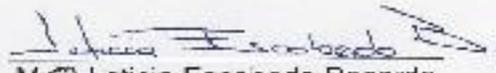
Aprobada



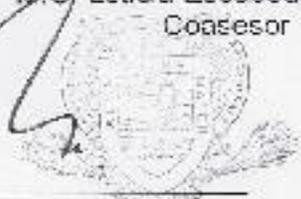
Dra. Francisca Ramirez Godina  
Asesor Principal



Dr. Fabián Fernández Luqueño  
Coadesor



M.C. Leticia Escobedo Bocardo  
Coadesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México  
Junio, 2015

## DEDICATORIAS

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortalezas para continuar cuando a punto de caer he estado; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico principalmente mi trabajo a **Dios**.

De igual forma, dedico esta tesis a mis padres el **Sr. Ángel Martínez Rodríguez** y la **Sra. Josefina Rodríguez Olguín** que han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos, valores, Porque hacen que todo sea posible, por su apoyo incondicional, su gran amor, paciencia y tolerancia, sobre todo por la confianza y libertad que me dieron para decidir mí camino, por haberme dado el regalo más grande que es la vida, por acompañarme en el camino y porque sé que lo seguirán haciendo hasta el final, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles. Los **amo** y de verdad MUCHAS GRACIAS.

A mis **hermanos** que siempre me orientaron con sus consejos y su apoyo moral para que yo siguiera por un buen camino con regaños y todo pero salimos adelante siempre estando unidos los tres.

A mis **sobrinas e ahijadas** que siempre llenan de alegría la casa las quiero mucho siempre tendrán mi apoyo incondicional.

A mi **familia** en general, porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios**: porque nunca me abandona, y me dio la oportunidad de venir a esta vida con una familia maravillosa.

A **mis padres**: por todo su apoyo económico, moral, espiritual y por su entrega como padres, por sus desvelos, sus sacrificios, consejos y esfuerzos por ser mejor cada día.

A mis **hermanos** que siempre estuvieron conmigo apoyándome.

A mi **familia** que siempre me brindó su apoyo moral para que continuara con mis estudios.

A **María Brenda Olivia Baylon Palomino** quien ha formado una parte importante en mi vida y me ha soportado todo este tiempo pero a pesar de todo hemos compartido muy buenos momentos juntos te quiero mucho.

A la **Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”** por darme la oportunidad de realizar mis estudios en ella, por prepararme como un profesional en sus aulas, y darme las bases para enfrentarme al mundo laboral.

Al **Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV UNIDAD SALTILLO)** por haberme dado la oportunidad y facilidades de poder llevar a cabo mi tesis en sus instalaciones de antemano muchas gracias.

Al **CONACYT** por haberme brindarme el apoyo con una beca para la realización de esta investigación.

Al **Dr. Fabián Fernández Luqueño** por haberme brindarme todo su apoyo, por darme la oportunidad de poder incorporarme a su proyecto de investigación y sobre todo por brindarme su amistad de antemano MUCHAS GRACIAS.

A la **Dra. Francisca Ramírez Godina** por su apoyo incondicional para la realización de esta tesis, por apoyarme en mis resultados de microscopia y en la redacion de la presente tesis MUCHAS GRACIAS.

A la **M.C Leticia Escobedo Bocardo** por su participación como coasesor para la presentación de mi examen profesional.

A **TA. Norma Leticia Portos Gaona** por apoyarme en el laboratorio con mis muestras de microscopia.

A **mis amigos y compañeros** de generación que siempre tuvimos muchos momentos de felicidad que quedaran en el recuerdo les deseo éxito a cada uno de ellos.

## Índice de Contenido

ÍNDICE DE FIGURAS .....	IV
ÍNDICE DE CUADROS .....	VII
RESUMEN .....	VIII
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
Objetivos específicos .....	3
HIPÓTESIS .....	3
REVISION DE LITERATURA .....	4
Aplicaciones de la Nanotecnología .....	4
Nanopartículas.....	5
Principales tipos de nanopartículas.....	6
Clasificación de las nanopartículas .....	8
Nanopartículas de origen natural.....	8
Nanopartículas antropogénicas.....	8
Nanopartículas de óxidos.....	9
Magnetita .....	9
Hematita.....	10
Óxido de Zinc.....	10
Dióxido de Titanio.....	11
Toxicidad de las nanopartículas.....	12
Efectos químicos .....	12
Efectos mecánicos .....	13
Efectos catalíticos.....	13
Nanopartículas y medio ambiente .....	14
Nanopartículas en la atmosfera .....	16
Las nanopartículas en la alimentación y agricultura .....	16
Riesgos tóxicos a humanos por exposición a nanopartículas.....	17
Principales vías de penetración de las nanopartículas .....	19
Vía inhalatoria .....	19
Vía dérmica .....	20
Vía digestiva.....	20

Riesgos tóxicos a plantas por exposición a nanopartículas .....	21
Vías de absorción de nanopartículas en las plantas .....	25
Maíz ( <i>Zea mays</i> L.) .....	28
Importancia del maíz en México .....	28
Frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) .....	29
Importancia del frijol en México .....	30
MATERIALES Y MÉTODOS .....	32
Descripción del sitio .....	32
Establecimiento de cultivos.....	32
Riegos y aplicación de nanopartículas.....	32
Manejo de los cultivo .....	34
Análisis de biomasa .....	34
Variables evaluadas para biomasa.....	34
Peso fresco y peso seco de la parte aérea y raíz .....	34
Longitud de la parte aérea y la raíz .....	34
Análisis Histológico de tallo y raíz.....	35
Variables analizadas en histología .....	35
Toma de muestras .....	35
Fijación .....	35
Deshidratación .....	35
Inclusión .....	36
Cortes en micrótopo.....	37
Montaje de tejidos en portaobjetos.....	37
Coloración.....	37
Análisis de imágenes .....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
Biomasa en raíz de Maíz y Frijol.....	40
Peso fresco de la raíz de maíz y frijol .....	41
Peso seco de la raíz de maíz y frijol.....	43
Longitud de raíz de maíz y frijol. ....	44
Parte aérea de plantas de maíz y frijol.....	46
Peso fresco de la parte aérea de maíz y frijol.....	47

Peso seco de la parte aérea de maíz y frijol.....	49
Longitud de la parte aérea de la planta de maíz y frijol.....	51
Análisis Histológico de Maíz y Frijol.....	52
Micromorfología en maíz.....	53
Área del haz vascular de raíz de maíz.....	53
Área de vasos de xilema de raíz de maíz.....	54
Número de vasos de xilema de la raíz de maíz.....	55
Área de vasos del xilema del tallo del maíz.....	56
Número de vasos de xilema en el tallo del maíz.....	57
Micromorfología en Frijol.....	60
Área del haz vascular de raíz de frijol.....	60
Área de vasos de xilema de raíz de frijol.....	61
Área de vasos de xilema del tallo del frijol.....	62
CONCLUSIONES.....	66
LITERATURA CITADA.....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

1	Principales aplicaciones de la nanotecnología.....	5
2	Tipos de nanoestructuras.....	7
3	Principales vías de exposición de las AgNPs.....	21
4	Vías de asociación, absorción y translocación de nanopartículas en la planta.....	27
5	Absorción, translocación y distribución de nanopartículas en la parte aérea de las plantas.....	28
6	Peso fresco de raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.....	42
7	Peso fresco de raíz de frijol a 23 y 73 días de crecimiento con tres nanopartículas a dos concentraciones.....	42
8	Peso seco de raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones....	43
9	Peso seco de raíz de frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones.....	44
10	Longitud de raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.....	45
11	Longitud de raíz de frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones.....	46
12	Peso fresco de parte aérea de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones....	48
13	Peso fresco de parte aérea de frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones.....	49
14	Peso seco de parte aérea de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones....	50

15	Peso fresco de parte aérea de frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones.....	50
16	Peso seco de parte aérea de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.....	52
17	Peso fresco de parte aérea de frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones.....	52
18	Área del haz vascular de la raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.....	54
19	Microfotografías a 5 X de cortes transversales de tallo de maíz tratadas con nanopartículas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de tallo a 23 días b) Ferrihidrita a 3 g/l, C) magnetita a 6 g/l , d) testigo de tallo a 73 días, e) óxido de zinc a 3 g/l, f) hematita a 6 g/l Escala 100 .....	55
20	Área del haz vascular de la raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.....	56
21	Números de vasos de xilema de la raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.. .....	57
22	Área de vasos del xilema del tallo del maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.....	58
23	Microfotografías a 5 X de cortes transversales de raíz de maíz tratadas con nanopartículas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de raíz a 23 días b) Hematita a 3 g/l, C) Hematita a 6 g/l , d) testigo de raíz a 73 días, e) Ferrihidrita a 3 g/l, f) dióxido de titanio a 6 g/l Escala 100 .....	59
24	Microfotografías a 5 X de cortes transversales de tallo de maíz tratadas con nanopartículas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de tallo a 23 días, b) Ferrihidrita a 3 g/l, C) magnetita a 6 g/l , d) testigo de tallo a 73 días, e) óxido de zinc a 3 g/l, f) hematita a 6 g/l Escala 100 .....	60

25	Área del haz vascular de raíz de frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones.....	61
26	Área de vasos del xilema de raíz del frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones. ....	62
27	Área de vasos del xilema de tallo del frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones. ....	63
28	Microfotografías a 5 X de cortes transversales de raíz de frijol tratadas con nanopartículas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de raíz a 23 días b) Ferrihidrita a 6 g/l, C) Ferrihidrita a 3 g/l, d) testigo de raíz a 73 días, e) ferrihidrita a 6 g/l, f) Magnetita a 6 g/l Escala 100.....	64
29	Microfotografías a 5 X de cortes transversales de tallo de frijol tratadas con nanopartículas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de tallo a 23 días b) Ferrihidrita a 3 g/l, C) Magnetita a 6 g/l, d) testigo de tallo a 73 días, e) ferrihidrita a 3 g/l, f) Magnetita a 6 g/l Escala 100 .....	65

## ÍNDICE DE CUADROS

1	Aplicación de Nanopartículas en g/l en plantas de maíz y frijol.....	33
2	Proceso de deshidratación.....	36
3	Cuadro comparativo de variables de biomasa de raíz en el cultivo de maíz a 23 y 73 días de crecimiento.....	40
4	Cuadro comparativo de variables de biomasa de raíz en el cultivo de frijol a 23 y 73 días de crecimiento.....	41
5	Cuadro comparativo de variables de biomasa de parte aérea en el cultivo de maíz a 23 y 73 días de crecimiento.....	47
6	Cuadro comparativo de variables de biomasa de parte aérea en el cultivo de frijol a 23 y 73 días de crecimiento.....	47
7	Cuadro comparativo de variables de micromorfología, en raíz en el cultivo de maíz a 23 y 73 días de crecimiento.....	58
8	Cuadro comparativo de variables de micromorfología, de tallo en el cultivo de maíz a 23 y 73 días de crecimiento.....	59
9	Cuadro comparativo de variables de micromorfología, de raíz en el cultivo de frijol a 23 y 73 días de crecimiento.....	63
10	Cuadro comparativo de variables de micromorfología, de tallo en el cultivo de frijol a 23 y 73 días de crecimiento.....	64

## RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de nanopartículas a nivel de biomasa y micromorfología en raíz y tallo de maíz y frijol bajo invernadero. El estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) Unidad Saltillo y en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Saltillo Coahuila. Se utilizaron plantas de maíz y frijol a las que se les aplicó las siguientes nanopartículas: en maíz ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{FeOOH}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZnO}$  y  $\text{TiO}_2$ ), en frijol ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{FeOOH}$  y  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) a 3 y 6 g/l más un control, se realizaron muestreos a 23 - 73 días, se evaluaron variables de biomasa (peso fresco, peso seco y longitud en raíz y parte aérea) y micromorfológicas (área del haz vascular, número de vasos de xilema y el área de vasos de xilema en raíz y tallo). Los resultados en biomasa muestran que la aplicación de nanopartículas de ferrihidrita, hematita, óxido de zinc y dióxido de titanio a concentraciones bajas influyen en el crecimiento y desarrollo de la planta de maíz en cuanto a peso y longitud de raíz y parte aérea a 23 y 73 días, en frijol las nanopartículas de hematita a concentraciones altas aumentan el peso de la planta y la ferrihidrita a concentración baja disminuye el sistema radicular pero induce a que aumente la parte aérea de la planta. En micromorfología la Magnetita, Hematita y Ferrihidrita en tallo a 6 g/l y en raíz a menor concentración 3 g/l aumentaron el área del haz vascular, área de vasos de xilema y el número de vasos los cuales se fueron modificando de acuerdo al desarrollo de la planta. El efecto en biomasa y la micromorfología de maíz y frijol al aplicar nanopartículas, dependerá del tipo de nanopartícula y la concentración que se le suministre a la planta.

Palabras Clave: Cambios Morfológicos, Cultivo, Concentración, Histología

## INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas son una nueva clase de materiales (sean cerámicos, metales, semiconductores, polímeros, o bien, una combinación de estos), en donde por lo menos una de sus dimensiones se encuentra entre 1 y 100 nm (Gutiérrez *et al.*, (2009). La distribución de tamaños detallada y la química de las partículas en el medio ambiente es difícil de analizar, debido a que sus concentraciones son generalmente bajas. Los tamaños de las partículas de materiales inorgánicos, tales como sulfato, amonio, nitrato, cloruro y compuestos orgánicos van desde 50 nm a 2 micras, con un tamaño medio de aproximadamente 100 nm (Cabada *et al.*, 2004).

Dicho lo anterior las nanopartículas generadas a través de los procesos de producción o durante los procesos de combustión en la industria tienen el potencial para entrar en contacto con los cultivos y plantas silvestres (Fernández-Luqueño *et al.*, 2014). Investigaciones demuestran el efecto de las nanopartículas en los cultivos como es el caso de calabacín *Cucúrbita pepo* la germinación de la semilla y la elongación de las raíces no fueron significativamente diferentes en la presencia de 1.000 mg/l de ZnO, mientras que el Cu y Ag inhibieron el crecimiento de la raíz (Stampoulis *et al.*, 2009). Lin y Xing (2008), encontraron que nanopartículas de óxido de zinc administradas a *Lolium perenne* L. (ryegrass) en concentraciones de 8-1,000 mg/l se translocaron en la endodermis y células de la planta, además provocó daño severo en la raíz, provocando gran inhibición del crecimiento de la planta. Nanotubos mono de capa de carbono mostraron afectaciones significativas en la zona de elongación radicular de cultivos como tomate, repollo, zanahoria y lechuga (Cañas *et al.*, 2008).

El maíz y el frijol son cultivos de suma importancia para el país y forman parte de la dieta básica de cada familia. El frijol en México ocupa el segundo lugar por superficie cultivada y el sexto por valor de la producción. Su importancia es ancestral y es la base de la alimentación y fuente de nutrientes desde la época prehispánica (Celis-Velázquez *et al.*, 2010). Estudios realizados arrojan resultados favorables como Xingmao *et al.*, (2010), quienes mostraron que nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  a concentraciones de  $2.5\text{-}40\text{ g kg}^{-1}$  de suelo, mejoraron el crecimiento de la espinaca. Otros resultados con efectos no significativos, como los presentados por Doshi *et al.*, (2008), donde nanopartículas de aluminio no demostraron tener un efecto significativo en el maíz en estudios realizados en columnas de arena con concentraciones de hasta  $17\text{ mg L}^{-1}$ .

Las nanopartículas liberadas diariamente al ambiente a través de los procesos de producción o durante los procesos de combustión en la industria (termoeléctrica, ladrillera, cementera, etc.) son fuente de contaminación, el cual podría causar efectos toxicológicos afectando el medio ambiente, los cultivos, el Hombre entre otros sectores.

En México aún no hay investigaciones que evalúen el efecto potencial en la biotransformación de los mecanismos naturales en los cultivos de alimentos, y la posible transmisión de los mecanismos naturales para la próxima generación de plantas expuestas a los nanomateriales es por eso que con esta investigación se dará a conocer cuáles son las repuestas morfológicas y fisiológicas de las plantas a las altas concentraciones de Nanopartículas y los sitios de acumulación de éstas en los tejidos de las plantas.

## OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de las nanopartículas de ZnO, TiO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, FeOOH y Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, sobre la micromorfología y la biomasa de tallo y raíz en *Zea mays* L. y *Phaseolus vulgaris* L. establecidos en invernadero.

### Objetivos específicos

Analizar el efecto de cinco concentraciones de nanopartículas en dos cultivos de importancia económica como el maíz y el frijol.

Estimar la producción de biomasa de raíz y tallo en respuesta a la aplicación de nanopartículas.

Identificar alteraciones micromorfológicas en tejidos y células de raíces y tallos de maíz y frijol, por efecto de la aplicación de las diferentes concentraciones nanopartículas.

## HIPÓTESIS

Las nanopartículas desechadas al ambiente de forma natural y por actividades de origen antropogénico, alteran la micromorfología, el crecimiento y desarrollo de plantas como el maíz y el frijol.

## REVISION DE LITERATURA

### Aplicaciones de la Nanotecnología

La nanotecnología ha sido definida como toda aquella tecnología que se relaciona con nuevos materiales, sistemas y procesos que operan a una escala de 100 nanómetros (nm) o menos, supone la manipulación de materiales y la creación de estructuras y sistemas a escala de átomos y moléculas, esto es, a nano escala. Las propiedades y efectos de las partículas y materiales a nano escala difieren considerablemente de las partículas más grandes con igual composición química. Las nanopartículas pueden tener una mayor reactividad química y ser más bioactivas que las partículas más grandes, por su tamaño, tienen mejor acceso a cualquier cuerpo y tienen probabilidad de entrar en células, tejidos y órganos. Estas propiedades ofrecen nuevas aplicaciones en casi todas las áreas de la industria (Lugo-Medina *et al.*, 2010).

La nanotecnología tiene aplicación en sistemas de alimentación y agricultura sustentable, mientras que los nanomateriales ofrecen innovación de productos a la industria de alimentos, en forma de colorantes, saborizantes, aditivos nutricionales e ingredientes antibacterianos para el envasado, así como agroquímicos y fertilizantes más potentes. Por ejemplo, compuestos de nanoarcilla (plásticos a los que se les ha agregado plaquetas de arcilla nanoscópicas) tanto en el envasado de alimentos y bebidas como en plásticos de uso agrícola que permiten la liberación controlada de herbicidas; también se está estudiando su empleo como revestimientos de fertilizantes de liberación controlada (Lugo-Medina *et al.*, 2010).

La posibilidad que tienen las nanotecnologías de aplicarse a múltiples sectores permite a las compañías ampliar sus actividades comerciales incursionando en otras industrias y nuevos segmentos de mercado (Fernández-Luqueño *et al.*, 2014).

La nanotecnología promete ser la próxima revolución tecnológica. El mercado de nanopartículas es reducido actualmente, pero se espera que en la próxima década se incremente considerablemente. Aunque es frecuentemente presentada como una tecnología limpia y ampliamente benéfica, la nanotecnología ya está generando considerable debate. Rápidamente han emergido controversias a propósitos de sus posibles impactos sobre la salud y el medio ambiente (Foladori y Invernizzi, 2005).



Figura 1. Principales aplicaciones de la nanotecnología (Avalos *et al.*, 2013).

## Nanopartículas

Las nanopartículas son partículas cuyas dimensiones están entre 1 y 100 nanómetros que se producen de manera natural en caso de incendios forestales,

erupciones volcánicas, etc., y se pueden fabricar e incorporar en diferentes procesos industriales lo que ha dado lugar a una gran exposición de estos nanomateriales a nivel ambiental (Frejo *et al.*, 2011).

Las nanopartículas han existido en el planeta por siglos, algunos ejemplos son las partículas de humo y las nanopartículas dentro de las bacterias, en algunas civilizaciones antiguas ya se utilizaban aprovechando sus propiedades ópticas y medicinales (Gutiérrez-Wing, 2001)

Frejo *et al.*, (2011), mencionan que las nanopartículas presentan propiedades físicas y químicas únicas, las cuales difieren significativamente de las correspondientes al mismo material de mayor escala, por lo que no es posible predecir su perfil de toxicidad por extrapolación a partir de datos de sus equivalentes de mayor tamaño. Lo que puede plantear nuevos riesgos para la salud del hombre y de otras especies. De hecho, es posible que los mecanismos de defensa del hombre no consigan reaccionar adecuadamente ante la presencia de dichas partículas manufacturadas, que poseen características completamente desconocidas para estos mecanismos de defensa.

#### Principales tipos de nanopartículas

Cuatro son las principales clases en las que en general son clasificados los nanomateriales

(a) Materiales de base de carbón: con formas esféricas, elipsoidales o tubulares; los fullerenos 1 esféricos son a veces denominados buckyballs, mientras que los cilíndrico-tubulares como nanotubos; sus propiedades fundamentales son su reducido peso y su mayor dureza, elasticidad y conductibilidad eléctrica, entre otras. (Delgado, 2007).

(b) Materiales de base metálica: pueden ser quantum dots (puntos cuánticos o transistores de un solo electrón o nanopartículas de oro, plata o de metales reactivos como el dióxido de titanio, entre otras (Delgado, 2007).

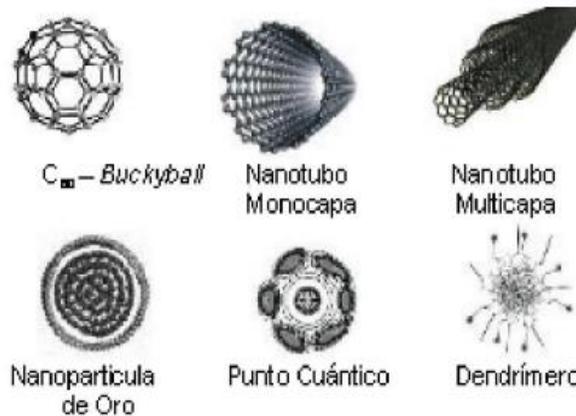


Figura 2. Tipos de nanoestructuras (Delgado, 2007).

(c) Dendrímicos: polímeros nanométricos construidos a modo de árbol en el que las ramas crecen a partir de otras y así sucesivamente; las terminaciones de cada cadena de ramas pueden diseñarse para ejecutar funciones químicas específicas -una propiedad útil para los procesos catalíticos-; además, dado que tienen cavidades internas, su uso médico para la “entrega de droga” es factible (lo mismo sucede con el caso de algunas estructuras de carbón y metálicas) (Delgado, 2007).

(d) Composites: combinan ciertas nanopartículas con otras o con materiales de mayor dimensión; el caso de arcillas nanoestructuradas es un ejemplo de uso extendido para la fabricación de diversos productos (Delgado, 2007).

## Clasificación de las nanopartículas

Las nanopartículas de acuerdo a su origen se pueden clasificar en nanopartículas naturales o artificiales, a continuación se describe cada una de ellas.

### Nanopartículas de origen natural

Las nanopartículas se producen de manera natural en caso de incendios forestales, erupciones volcánicas etc. Algunas son de origen biológico, como virus y bacterias y 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 incendios forestales (Frejo *et al.*, 2011).

Según Zalts, (2011), las partículas nanométricas naturales en general tienen tiempos de vida cortos en el ambiente, ya que desaparecen por disolución o por formación de aglomerados mayores.

### Nanopartículas antropogénicas

Frejo *et al.*, (2011) mencionan que son aquellas que se producen en procesos industriales como 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), procesos de combustión (diésel, carbón), obtención de pigmentos, o en procesos domésticos.

Nanopartículas de óxidos.

Guerrero *et al.*, (2011), mencionan que las nanopartículas de óxidos metálicos presentan mejores propiedades eléctricas, ópticas, magnéticas, químicas y físicas en relación a las de sus homologas de tamaño volumétrico. Dichas propiedades dependen de manera directa de los cambios estructurales que experimentan las partículas cuando se acercan a la escala nanométrica. Esta disminución de tamaño genera una mayor disponibilidad de átomos superficiales y la formación de niveles discretos de energía. Como resultado se obtienen materiales nanoestructurados con aplicaciones en la industria

Magnetita.

La magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) en forma nanoparticulada ha encontrado diversas aplicaciones en el campo de la biomedicina, en fenómenos como el transporte selectivo de fármacos, con prometedor futuro en la terapia del cáncer, en el mejoramiento por contraste de las imágenes por resonancia magnética, en la reparación de tejidos, en la reducción de la toxicidad de los fluidos biológicos, entre otros. Diversos óxidos nanoestructurados basados en magnetita han resultado ser buenos dispositivos para la manufactura de materiales magnéticos, películas de protección sensibles, catalizadores, pigmentos (Picasso *et al.*, 2012).

Picasso *et al.*, (2012), mencionan que la magnetita ha sido utilizada en aplicaciones biomédicas como un trazador para la reparación de tejidos, para el mejoramiento de las propiedades de fármacos, detección temprana de algunos carcinomas, entre otros. La investigación de la magnetita nanoparticulada como

componente principal de sensores y su interacción con polímeros de impresión molecular para la detección de colorantes es interesante desde el punto de vista ambiental.

#### Hematita

Estudios de laboratorio han comprobado que las partículas de hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) forman una capa de óxido protector y detienen el avance de ataques corrosivos sobre las estructuras metálicas. La incorporación de nano-óxidos de hierro en pinturas y barnices mejora significativamente el comportamiento de estos recubrimientos frente a las sales y cloruros, evitando la disminución de su transparencia y de su brillo. Este cambio de comportamiento radica en que las propiedades de los materiales cambian significativamente cuando su tamaño es menores a 100 nm (Berrones y Lascano, 2009).

La hematita ha captado especial atención debido a sus diversas aplicaciones y usos en biomedicina, nanocatalisis, nanodielectricos, biosensores, cerámicos, pigmentos, entre otros (Berrones y Lascano, 2009).

#### Óxido de Zinc.

Martinello *et al.*, (2012), mencionan que el ZnO es insoluble en agua y etanol pero es soluble en ácidos minerales diluidos y es un polvo fino, blanco o ligeramente amarillento. En grandes cantidades y alta pureza, se recomienda para usos en la industria farmacéutica, de la alimentación y de la cosmética.

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

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

#### Dióxido de Titanio

El dióxido de titanio TiO<sub>2</sub>, es un semiconductor tipo n sensible a la luz que absorbe radiación electromagnética, principalmente en la región UV, además es un óxido anfótero muy estable químicamente. Por estas características, es el fotocatalizador más empleado actualmente para degradar moléculas orgánicas durante la purificación del agua. Además se utiliza como pigmento blanco, recubrimiento anticorrosivo, sensor de gases, absorbente de rayos UV en productos cosméticos y de manera general en la industria cerámica (Vargas *et al.*, 2011).

Según Hernández *et al.* (2008), mencionan que el Dióxido de Titanio es uno de los semiconductores más investigados dentro de los procesos de oxidación avanzada, debido a que este posee propiedades fotoconductoras y fotocatalíticas que lo presentan como uno de los óxidos de mayor impacto en la degradación de ozo-

clorantes, oxidación de compuestos orgánicos volátiles y degradación de compuestos orgánicos clorados, entre otras.

#### Toxicidad de las nanopartículas

La captación, la translocación y la toxicidad de PN a los seres humanos, animales y, en algunos casos, a las plantas se han estudiado en diversos montajes experimentales. La acumulación, la persistencia y el impacto de los parlamentos nacionales en el metabolismo de la planta y el desarrollo dependerán del tamaño, la concentración y la química de NPs, así como el medio químico de la subcelular sitios a los que se depositan las nanopartículas. Las nanopartículas pueden ser tóxicas para los tejidos de la planta, debido a los efectos químicos o físicos. Por lo tanto, NPs actúan como catalizadores e interactores o, en caso de disolución, como iones metálicos solubles. (Karl-Josef y Herth, 2011).

Las nanopartículas interactuar con los sistemas biológicos por cinco modos principales: Efectos químicos como iones metálicos en solución después de la disolución, y debido a efectos mecánicos esferas duras y definidas las interfaces (Karl-Josef y Herth, 2011).

#### Efectos químicos

Los metales tóxicos, tales como Cu, Cd, mercurio (Hg), Ni y Zn, se unen a componentes celulares, incluyendo proteínas, por ejemplo a grupos sulfhidrilo, carboxilo o imidazol, y modificar sus actividades. Esta interferencia con los procesos celulares a menudo provoca desequilibrios redox y el estrés oxidativo en plantas de metal expuestas (Schützendübel y Polle 2002). Algunos metales, tales como Cu y Fe,

la transferencia de electrones a  $O_2$  como aceptores para formar  $O_2^{\cdot-}$  o  $H_2O_2$  para formar el OH extremadamente reactiva radical. Estas reacciones aumentan el estrés oxidativo en las células afectadas. Partículas elementales de los metales básicos a menudo se disuelven fácilmente. Partículas oxídicos disuelven como iones metálicos en solución con muy diferentes tipos y por lo tanto pueden ejercer su acción tóxica en forma de iones. Más metales nobles, tales como Ag, se disuelven lentamente. Concentraciones de NP en la atmósfera y el suelo son generalmente bajas y la mayoría se asocian con las superficies de las plantas. Por lo tanto, el efecto de toxicidad a través de esta vía se puede considerar pequeña, a excepción de la intoxicación masiva y efectos locales, debido a la liberación de grandes cantidades de iones en un sitio específico (Schutzendubel y Polle, 2002)

#### Efectos mecánicos

Los efectos mecánicos dependen del tamaño de las partículas y no en la química de las partículas. Ellos incluyen el relleno de los poros, que son entonces disponibles para otros procesos de transporte. Un ejemplo es la inhibición del transporte de agua en presencia de altas concentraciones de NP en el suelo. Los mecanismos de toxicidad de CuO y ZnO NPs pueden depender principalmente de la interacción entre los parámetros nacionales y biomoléculas, y la toxicidad implica principalmente desplegamiento de la proteína (Chang *et al.*, 2012).

#### Efectos catalíticos

Muchos metales, incluyendo Ag, Pt, Pd, oro (Au), Fe y Co, catalizan reacciones químicas, como las reacciones de oxidación-reducción. Los iones metálicos a bajas

concentraciones compatibles con las células están por lo general obligados a quelantes constitutivos o inducibles, incluyendo fitoquelatinas, ácidos orgánicos, metalotioneína y ferritina o están compartimentados por procesos de transporte. Estos mecanismos son ineficaces si estos metales se introducen en forma de partículas en las células o compartimentos celulares. Sin embargo, dependiendo de la superficie accesible y medio celular, la actividad catalítica de los iones metálicos se puede preservar y, como resultado, las moléculas modificadas, tales como proteínas oxidadas, se puede acumular. Tales mecanismos pueden explicar la fuerte toxicidad de Cu-NP en ratones *in vivo* (Huan *et al.* 2007)

#### Nanopartículas y medio ambiente

Las nanopartículas se producen de manera natural en caso de incendios forestales, erupciones volcánicas, etc., y se pueden fabricar e incorporar en diferentes procesos industriales, lo que ha dado lugar a una gran exposición de estos nanomateriales a nivel ambiental (Frejo *et al.*, 2011).

Las partículas nanométricas naturales en general tienen tiempos de vida cortos en el ambiente, ya que desaparecen por disolución o por formación de aglomerados mayores. En cambio las nanopartículas sintéticas fueron diseñadas para ser persistentes, ya sea a través del uso de recubrimiento o por agentes fijadores, además pueden contener compuestos en formas estructurales que no existen naturalmente y cuya interacción con los seres vivos puede ser diferente a la que se conoce para otras formas químicas (Zalts, 2011).

La producción y usos cada vez más amplios y difundidos de nanomateriales causaran la liberación de nanopartículas al ambiente, donde podrán interactuar con los componentes bióticos y abióticos de los ecosistemas. A pesar de los innegables beneficios de incluir nanopartículas en la formulación de productos de consumo, pueden generar nuevos riesgos ambientales (Zalts, 2011).

Para Frejo et al. (2011), el efecto de las nanopartículas en el ambiente es hoy en día de gran preocupación y es conveniente realizar estudios de evaluación de esas nanopartículas sobre.

- Toxicidad de partículas y fibras provenientes de nanomateriales.
- Ciclo de vida de los nanomateriales.
- Destino del material contaminante por adsorción desde el agua.
- Biodegradabilidad y persistencia de nanomateriales basados en polímeros.
- Relanzamiento de nanomateriales tóxicos del ambiente.
- Métodos de eliminación de nanomateriales tóxicos del ambiente.
- Uso mal intencionado de los nanomateriales.
- Examinar la ruta de la captación de las NP's de síntesis de los organismos en diferentes ambientes (comportamiento en la cadena alimentaria).

Existe una exposición a nanopartículas potencialmente contaminantes a través del aire mediante su uso en procesos industriales, al agua a través de las aguas

residuales por derrames o lavados, y en el suelo donde se pueden acumular por su uso en herbicidas, industria electrónica, neumáticos, pilas de combustible, vertido de muchos productos, desconociéndose de que manera puedan transformarse, por lo cual es necesario estudiar su distribución en los distintos comportamientos industriales (Frejo *et al.*, 2011).

### Nanopartículas en la atmosfera

Una de las principales interacciones del ser humano con el medio ambiente se da con el aire, de donde este toma el oxígeno necesario para todas las funciones vitales y junto con el oxígeno ingresan en el organismo infinidad de partículas que se encuentran suspendidas en la atmosfera. El aire puede transportar las nanopartículas, debido a su peso y tamaño, por lo que puede viajar grandes distancias e interactuar con otros contaminantes, generando efectos indeseables sobre el medio ambiente y la salud (Frejo *et al.*, 2011).

### Las nanopartículas en la alimentación y agricultura

La nanotecnología está saliendo del laboratorio para incorporarse a todos los sectores de la producción de alimentos. Ya se están usando nanomateriales manufacturados en la producción de ciertos alimentos y suplementos nutricionales, en numerosas aplicaciones de envasado y almacenamiento de alimentos y en ciertos insumos agrícolas (por ejemplo, fertilizantes y plaguicidas) (Foladori y Invernizzi, 2005).

Las investigaciones realizadas sobre el uso de la nanotecnología en toda la cadena alimentaria revela que los alimentos que contienen nano ingredientes y nano

aditivos manufacturados no son algo salido de la ciencia ficción, sino que ya están a la venta en los supermercados (Foladori y Invernizzi, 2005).

Es posible que la nanotecnología cambie el uso de las sustancias químicas actuales por nanopartículas, debido a que están diseñadas para tener un efecto exterminador más potente contra malezas y plagas. Sin embargo, los nanoplaguicidas pueden resultar más tóxicos que los agroquímicos convencionales para la flora y fauna silvestre. La tendencia a la utilización de productos biocompatibles y biodegradables (nanocápsulas, sistemas micelares o dendrímeros) en base a biopolímeros, los cuales una vez que hayan liberado al plaguicida puedan biodegradarse, implica un avance importante en la conservación del ambiente. También es necesario un marco normativo que indique con qué tipo de materiales están operando. Los nano agroquímicos pueden disminuir considerablemente el uso de agroquímicos, al aprovechar su tamaño y mayor superficie de contacto, no obstante también podrían contaminar suelos y agua (Lugo-Medina *et al.*, 2010).

#### Riesgos tóxicos a humanos por exposición a nanopartículas

Uno de los factores que demuestran los riesgos de las nanopartículas a la salud humana es que aunque la cantidad de materia utilizada para un proceso nanológico es mínima, su pequeño tamaño puede ser suficiente para atravesar la piel o la barrera hematoencefálica (Frejo *et al.*, 2011).

La concentración de nanopartículas varía entre 20 y 30 mg m<sup>-3</sup> en el norte de Europa, en las ciudades de Asia los valores diarios pueden exceder los 200 mg m<sup>-3</sup>. Algunos expertos sugieren un límite de 10 mg m<sup>-3</sup>, que no han reportado daños a la

salud, mientras que algunas normas oficiales mencionan un umbral entre 20 y 25 mg m<sup>-3</sup>. Datos estadísticos de más de 100 ciudades en los EE.UU. y Europa sugieren un incremento entre 0.2 y 0.8% en la mortalidad cuando se observa un incremento en 10 mg m<sup>-3</sup> en la concentración de nanopartículas (Karl-Josef Y Herth, 2011).

Las nanopartículas de plata (AgNPs) son las que tienen un mayor grado de comercialización. Se utilizan en electrónica, ropa, pinturas, cosméticos, bactericidas, biofungicidas, aplicaciones biomédicas, en la industria médico-farmacéutica y alimentaria. Algunos estudios han mostrado que la toxicidad intrínseca de las AgNPs depende de una serie de factores como son el tamaño, la forma, el área superficial, la carga superficial, la solubilidad y el estado de aglomeración. Asimismo, numerosas investigaciones in vitro indican que las AgNPs son tóxicas para las células de mamífero. Además, consecuencias inflamatorias, oxidativas y genotóxicas están asociadas con la exposición de AgNPs (Avalos *et al.*, 2013).

La exposición humana a las nanopartículas se puede producir principalmente por la vía respiratoria (nanopartículas suspendidas en el aire), dérmica (nanopartículas ambientales, cosméticos) y oral (alimentos, agua). Los mecanismos de toxicidad no se conocen con exactitud, la investigación en este campo es un aspecto prioritario en la actualidad que va a determinar la relación riesgo/beneficio de su uso y por tanto su futuro, que parece potencialmente prometedor (Gutiérrez-Praena *et al.*, 2009).

La exposición a nanopartículas puede tener lugar a través del agua, el aire y los alimentos, por lo que las vías respiratoria, oral y dérmica son las más relevantes.

## Principales vías de penetración de las nanopartículas

En los puestos de trabajo la vía de entrada más común de las nanopartículas en el organismo es la vía inhalatoria, especialmente si se trata de un material poco soluble, aunque no hay que descartar la dérmica y la ingestión (Erro-Urrutia, 2011).

### Vía inhalatoria

Los nanomateriales inhalados, dependiendo de su tamaño, forma y composición química, son capaces de penetrar y depositarse en los diferentes compartimentos del aparato respiratorio, en la región extra-torácica incluyendo la boca, fosas nasales, la laringe y la faringe; la región traqueo-bronquial, de la tráquea a los bronquios; y la región alveolar que comprende los bronquiolos y los alveolos. La deposición puede tener lugar como consecuencia de la sedimentación gravitatoria, la impactación inercial, la intercepción, de las partículas con la superficie de contacto; por fenómenos de difusión relacionados con los movimientos aleatorios de las partículas muy finas y por la atracción electrostática debida a su carga (Erro-Urrutia, 2011).

Las partículas de alrededor de 300 nm son las que se depositan menos en el tracto respiratorio ya que son demasiado gruesas para que los fenómenos de difusión les puedan influir y, por otro lado, son demasiado pequeñas para que los fenómenos de impactación y sedimentación tengan influencia sobre ellas. A partir de este valor la deposición crece de manera significativa siendo la difusión el fenómeno predominante (Erro-Urrutia, 2011).

Las partículas ultra finas superiores a 10 nm se depositan mayoritariamente en la Región alveolar y las inferiores a 10 nm se depositan principalmente en la región extratorácica y en una menor cantidad en la región traqueo bronquial.

En estudios realizados con ratas se ha observado que pueden depositarse nanopartículas en la región nasal y que estas, son capaces de trasladarse hasta el cerebro a través del nervio olfativo (Erro-Urrutia, 2011).

#### Vía dérmica

No se han descrito efectos específicos para la salud relacionada con la exposición dérmica a partículas ultra finas, aunque hay estudios que sugieren que este tipo de partículas pueden penetrar a través de los folículos pilosos, donde los constituyentes de las partículas pueden disolverse en condiciones acuosas y penetrar a través de la piel. Por otro lado, hay que tener en cuenta que, dado que la penetración directa a través de la piel ha estado descrita para partículas con un diámetro de 1.000 nm, es razonable pensar que las nanopartículas penetraran con mayor facilidad (Erro-Urrutia, 2011).

#### Vía digestiva

Tampoco se han descrito efectos específicos para la salud relacionados con la ingestión de nanopartículas, que puede tener lugar debido a malas prácticas higiénicas durante el manejo de nanomateriales o también a través de la deglución de las retenidas en las vías altas del sistema respiratorio (Erro-Urrutia, 2011).

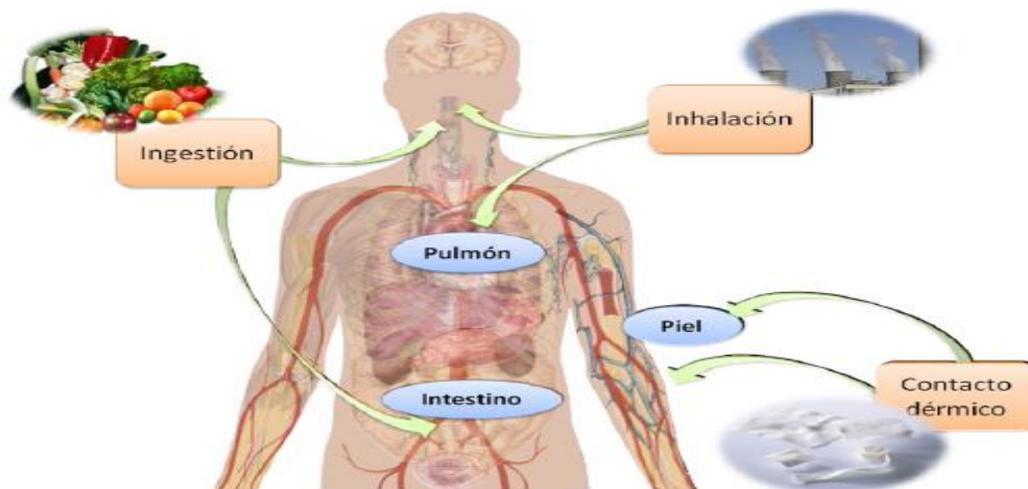


Figura 3. Principales vías de exposición de las AgNPs (Avalos *et al.*, 2013).

### Riesgos tóxicos a plantas por exposición a nanopartículas

La acumulación, persistencia y el impacto de las nanopartículas en el metabolismo y desarrollo de las plantas depende del tamaño, concentración y química de las nanopartículas, así como del lugar donde se deposita. Pueden ser tóxicos para los tejidos de las plantas debido a los efectos físicos o químicos (Mae-Wan, 2012).

Las plantas son particularmente relevantes en las consideraciones de econanotoxicidad basado en su interacción con el aire, el suelo y el agua, todos que puede contener nanopartículas artificiales. Además, las plantas presentar una oportunidad significativa para facilitar nanopartícula transferir entre las distintas especies en la cadena alimenticia, ya que son consumida por menor trófico los organismos de nivel, los animales, y personas. Aunque hay una amplia variedad de especies de plantas dentro del ecosistema, la mayoría del trabajo nanotoxicidad hasta la fecha se ha centrado en plantas para el consumo humano, como el maíz, de trigo, soja, tabaco y muchas plantas de frutas o vegetales, tales como calabaza y pepino

(Mae-Wan, 2012). Rico et al., (2011) menciona que la captación, la bioacumulación, biotransformación, y los riesgos de los nanomateriales (NMS) para los cultivos de alimentos aún no se comprenden bien. Muy pocos mecanismos y las especies de plantas han sido estudiados, principalmente en las etapas muy tempranas de crecimiento de las plantas. La mayoría de los estudios, excepto uno con nanotubos de carbono de múltiples paredes realizadas en el modelo de la planta *Arabidopsis thaliana* y otro con nanopartículas de ZnO (NPS) sobre ballico, informaron el efecto de NMS en la germinación de semillas o plántulas de 15 días de edad. Muy pocas referencias describen la biotransformación de los mecanismos naturales en los cultivos de alimentos, y la posible transmisión de los mecanismos naturales para la próxima generación de plantas expuestas a NMS es desconocido.

Estudios demuestra que dos nanopartículas que se fabrican actualmente en grandes cantidades pueden afectar de manera significativa en la producción de alimentos, tal que un cultivo de tanta importancia como la soja. En el caso de las nanopartículas de ZnO, la calidad de los alimentos se puede ver afectada por la bioacumulación; en el caso del CeO<sub>2</sub>, la fertilidad del suelo se ve comprometida (Mae-Wan, 2012).

En un trabajo realizado se generó evidencias de que nanotubos de carbono multicapa a una concentración de 10-40 mg L<sup>-1</sup>, mejoraron drásticamente la germinación y crecimiento de plantas de tomate, este resultado tal vez se deba a la capacidad de los nanotubos de penetrar la cubierta de la semilla promoviendo de esta manera la absorción de agua beneficiando así la germinación de la semilla (Khodakovskaya et al., 2009).

La fitotoxicidad de las nanopartículas de ingeniería (ENPs) para plantar plántulas interactúan estrechamente con su entorno y las plantas son un componente esencial de la base de todos los ecosistemas. Como resultado, ENPs inevitablemente interactuar con plantas y estas interacciones tales como la absorción y la acumulación de biomasa vegetal afectará en gran medida su destino y transporte en el medio ambiente (Xingmao *et al.*, 2010).

Un estudio con árboles de sauce indicó que nanopartículas de TiO<sub>2</sub> tuvieron pocos efectos en el incremento del uso de agua y transpiración (Seeger *et al.*, 2009). De igual forma nanopartículas de aluminio no demostraron tener un efecto significativo en el frijol en estudios realizados en columnas de arena con concentraciones de hasta 17 mg L<sup>-1</sup> (Doshi *et al.*, 2008).

La mayoría de los estudios realizados en plantas demuestran que existe una fitotoxicidad hacia las nanopartículas, sobre todo en altas concentraciones. Nanotubos mono capa de carbono mostraron afectaciones significativas en la zona de elongación radicular de cultivos como tomate, repollo, zanahoria y lechuga (Cañas *et al.*, 2008).

Se ha demostrado que nanopartículas de óxidos metálicos como por ejemplo de cobre, son tóxicos para dos especies de plantas, el trigo (*Triticum aestivum* L.) y *Phaseolus radiatus* L. ya que redujeron el índice de crecimiento en plántulas de estas dos especies. *Phaseolus radiatus* L. mostro mayor sensibilidad a las nanopartículas y esto se atribuye a la diferente anatomía y estructura de la raíz de ambas especies, puesto que la raíz del trigo está compuesta por numerosas raíces pequeñas y carece de raíz primaria, en cambio *Phaseolus radiatus* L. presenta una raíz principal y

numerosas raíces secundarias en desarrollo. Otros estudios demostraron que pequeñas concentraciones de nanopartículas de plata Ag, afectan a la especie *Arabidopsis thaliana* L. que presenta una raíz semejante a *Phaseolus radiatus* L. (Lee *et al.*, 2008).

Algunos síntomas encontrados por fitotoxicidad a nanopartículas son, la reducción de la biomasa, afectación en el crecimiento y malformaciones de la raíz. También se debe mencionar que la inhibición de crecimiento de las plantas puede no derivarse directamente de fitotoxicidad química de las nanopartículas. La toxicidad puede resultar de las interacciones físicas entre las nanopartículas y las vías de transporte de células de las plantas, es decir, mediante la inhibición del tráfico vía apoplástica por la obstrucción de los espacios intercelulares en la pared celular o poros de la pared celular, o las conexiones entre las células simplásticas a través de la obstrucción de los plasmodesmos citoplasmáticos (Xingmao *et al.*, 2010).

Masarovicova y Králová (2013) menciona que las propiedades físico-químicas de las nanopartículas (incluyendo nanopartículas metálicas, MNPs) determinar su interacción con los organismos vivos. Las células de plantas, algas, y hongos poseer paredes celulares que constituyen un sitio principal para la interacción y una barrera para la entrada de las NP. Mecanismos que permiten a los parámetros nacionales pasan por las paredes celulares y las membranas son aún mal entendidas. Sin embargo, dentro de las células, los NP pueden provocar directamente alteraciones de membranas y otras estructuras celulares y moléculas, así como mecanismos de protección. Los efectos indirectos de los NP dependen de sus propiedades químicas y

físicas y pueden incluir restricciones físicas (efectos de obstrucción), la solubilización de compuestos NP tóxicos, o la producción de especies de oxígeno reactivas

#### Vías de absorción de nanopartículas en las plantas

Las nanopartículas son absorbidas en las superficies de las plantas a través de su nano o micro aberturas. Existen varias rutas por las que se puede absorber o asociar las nanopartículas con la planta. La parte aérea de la planta facilita la interacción con nanopartículas presentes en el aire (Karl-Josef y Herth, 2011).

Birbaum, et al., (2010), menciona que en muchos órganos de la parte aérea están cubiertos por tricomas, que pueden también beneficiar la absorción de nanopartículas. En estudios previos se expusieron plantas jóvenes de maíz durante 20 minutos a 400 mg de aerosol con nanopartículas de CeO<sub>2</sub> (37 nm). Con el trabajo se concluyó que la interacción entre las nanopartículas es independiente al estado de las estomas, ya sean abiertas o cerradas.

Según Schreiber, (2011), la absorción de nanopartículas en la planta puede utilizar diferentes rutas. Las tasas de absorción dependerán de las propiedades, tamaño y superficie. Las superficies de las hojas, las frutas y células epidérmicas están cubiertas por una cutícula. Esta puede permitir la entrada de nanopartículas muy pequeñas y ponerse en contacto con la planta. Las propiedades permeables entre la cutícula, las células epidérmicas y tricomas o estomas son diferentes. Las propiedades físicas y biomecánicas de la cutícula pueden cambiar de acuerdo con la temperatura.

Las nanopartículas pueden penetrar en zonas libres de la cutícula, como el estigma de las flores y estomas. Algunas aperturas de estomas pueden llegar a tener

10  $\mu\text{m}$  de diámetro en plantas mesófilas, como por ejemplo *Vicia faba* L. (haba) expuesto a alta luz. Se ha demostrado la penetración de nanopartículas a través de las estomas por exposición vía aérea a nanopartículas (Birbaum, *et al.*, 2010).

Faiyue *et al.*, (2010), mencionan que en el suelo, las raíces y tubérculos desarrollan capas de suberina como una interface con el medio del suelo. La suberina se deposita como una sola capa o una lámina con muchas capas en el interior de la pared celular. Muchas raíces principales cuentan con una exodermis suberinizada, así como una endodermis suberinizada. La exodermis evita el flujo apoplástico de solutos y agua al cilindro central. Sin embargo la formación de las raíces secundarias puede permitir el paso de las nanopartículas y ser conducidas a la planta a través del xilema.

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

En la figura 4 se muestran las vías de asociación, absorción y translocación de nanopartículas en plantas, el grosor de las líneas está relacionado con el nivel de importancia de las vías. El esquema incluye la parte aérea y las raíces, el movimiento o transporte dentro de la planta son representados por la parte azul. Las líneas discontinuas indican vías con muy bajas tasas de transporte.

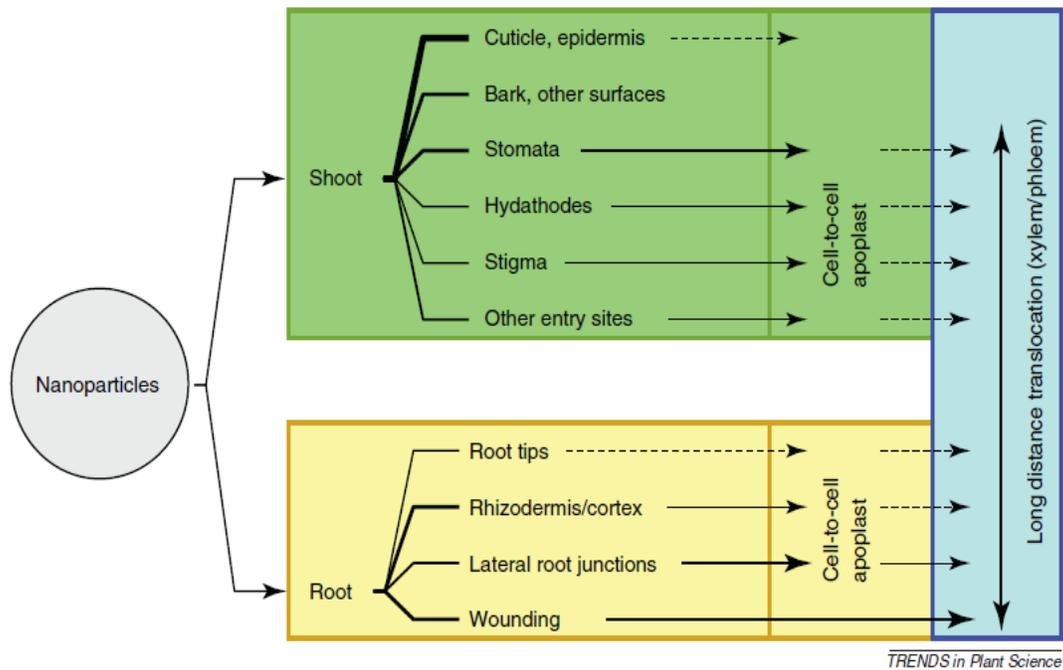


Figura 4. Vías de asociación, absorción y translocación de nanopartículas en la planta. Fuente: Karl-Josef y Herth, 2011.

La figura 5 muestra la distribución de nanopartículas de tres tamaños diferentes, en la parte aérea de la planta, a nivel de órgano, tejidos y células. De todas las nanopartículas que están en contacto con la parte aérea de la planta una parte entra en el espacio intercelular, únicamente las nanopartículas más pequeñas logran atravesar las paredes celulares y pueden entrar al protoplasma.

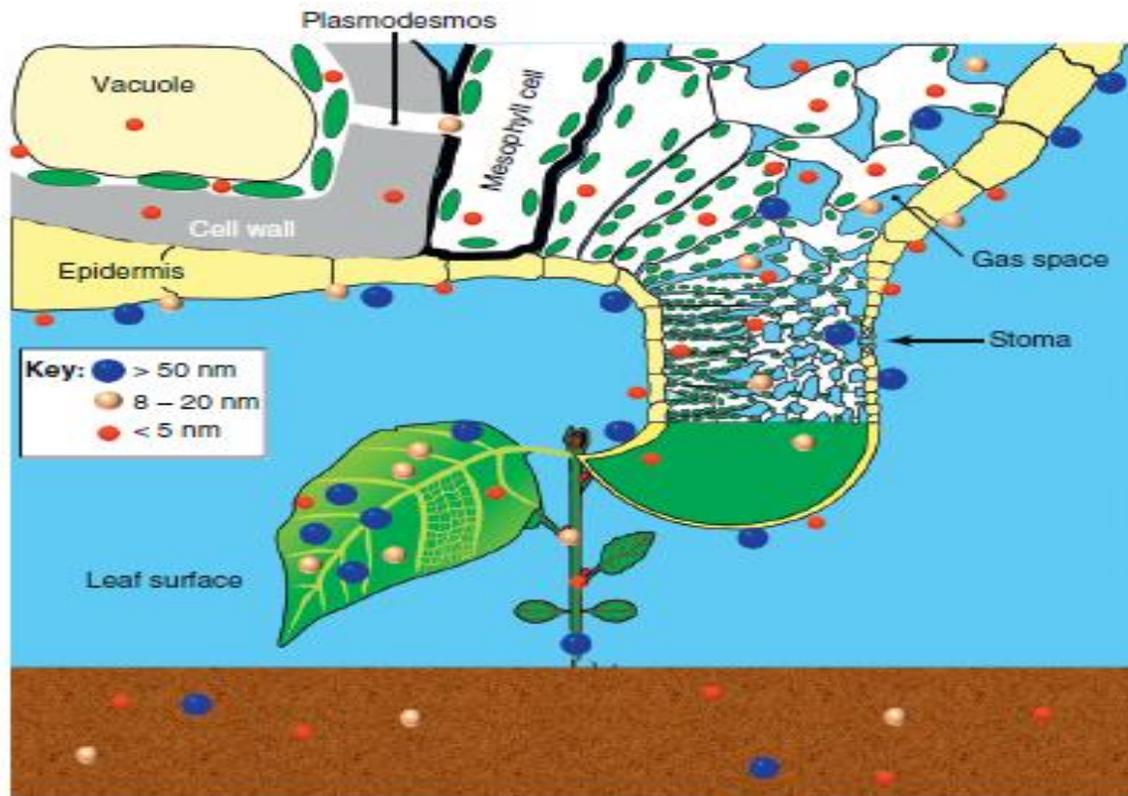


Figura 5. Absorción, translocación y distribución de nanopartículas en la parte aérea de las plantas. Fuente: Karl-Josef y Herth, 2011.

Maíz (*Zea mays* L.)

Importancia del maíz en México

El maíz es el cultivo más importante de México. El maíz blanco en grano se utiliza principalmente para la elaboración de las tradicionales tortillas y tamales, pero de él también pueden obtenerse aceite e insumos para la fabricación de barnices, pinturas, cauchos artificiales y jabones. El maíz amarillo en grano también se utiliza para consumo humano en una amplia variedad de platillos; sin embargo, su principal destino es la alimentación del ganado y la producción de almidones (SIAP-SAGARPA, 2013).

En el 2012 el maíz alcanzó una superficie sembrada de 7, 372,218.2 Ha, con una superficie cosechada de 6, 923,899.7 Ha, obteniendo una producción de 22, 069,254.4 toneladas, esto nos indica que el promedio nacional de rendimiento por hectárea es de 3.19 Ton Ha<sup>-1</sup>. El precio por tonelada de frijol oscila en los 4,009.00 (SIAP-SAGARPA, 2013). Esto nos da una idea de la importancia del cultivo de maíz en el país.

#### Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

La planta del frijol domesticado es anual, herbácea, de hábito arbustivo para siembras en monocultivo o trepador para siembras generalmente asociadas con maíz. El ciclo biológico puede variar desde 85 a 270 d, en función del hábito de crecimiento, del clima de la región y de la época de siembra. Aunque se cultiva desde Argentina hasta Canadá y desde el nivel del mar hasta los 3200 m de altura, es una planta termófila susceptible a heladas (Lépiz *et al.*, 2010).

La forma silvestre de *P. vulgaris* es de hábito indeterminado trepador en la que predominan las flores de color morado; las vainas son pequeñas y delgadas, dehiscentes y de granos pequeños; las semillas son generalmente de color gris, ya sea uniformes o jaspeadas. Se le encuentra desde el norte de México hasta el noroeste de Argentina, en una distribución continua y en un rango altitudinal de 500 a 2000 m, con precipitaciones anuales de 500 a 1800 mm. Prospera en ambientes de bosque con baja población de árboles, con preferencia en sitios con arbustos espinosos y maleza; éstos se pueden encontrar en las riberas de los ríos, hábitat con

perturbaciones por efectos de vulcanismos, incendios naturales o por modificaciones hechas por el hombre (Lépiz *et al.*, 2010).

Entre algunas propiedades con las que cuenta el frijol esta su alto contenido de hierro, elemento vital para el buen desarrollo cerebral en los pequeños, ayuda a corregir desórdenes biliares, enfermedades reumáticas, disminuye la tasa de colesterol y es eficaz contra la anemia, además su consumo puede prevenir algunos tipos de cáncer. Por cada 100 gramos, hay 20 de proteínas, 5.8 de grasa y más de 3 de fibra (Lépiz *et al.*, 2010).

#### Importancia del frijol en México

El frijol en México ocupa el segundo lugar por superficie cultivada y el sexto por valor de la producción. Su importancia es ancestral y es la base de la alimentación y fuente de nutrientes desde la época prehispánica (Celis-Velázquez *et al.*, 2010).

En el 2012 el frijol alcanzó una superficie sembrada de 1, 700,513.5 Ha, con una superficie cosechada de 1, 558,991.9 Ha, obteniendo una producción de 1, 080,856.7 toneladas, esto nos indican que el promedio nacional de rendimiento por hectárea es de 0.69 Ton Ha<sup>-1</sup>. El precio por tonelada de frijol oscila entre los 12,753.00 (SIAP-SAGARPA, 2013). Revisando estas cifras nos podemos dar cuenta de la importancia del cultivo en el país además de que es un producto presente en la dieta básica de todo mexicano.

En México, el frijol es la guarnición más utilizada para acompañar diferentes platillos. Es además una importante fuente de proteínas, que se cultiva en casi todo el

territorio nacional. La planta de frijol es una enredadera que alcanza entre cincuenta y setenta centímetros de altura. Sus raíces están bien desarrolladas, con una principal o pivotante y muchas otras secundarias; pero tiene tallos delgados y débiles. Sus hojas son trifoliadas, es decir, dispuestas de tres en tres, con bordes ovales y estandarte redondeado. El fruto es una vaina suavemente curvada y dehiscente; esto significa que se abre naturalmente cuando está madura. Esta vaina puede medir de diez a 12 centímetros y es de color verde morado o casi negra (SIAP-SAGARPA, 2013).

Con la desaparición de la Compañía Nacional de Subsistencias Populares (CONASUPO) el estado se retiró de la regulación del mercado de frijol, permitiendo que el precio fuera determinado por la oferta y la demanda. Hay poco más de 550 mil productores que generan más de 1.2 millones de toneladas anuales y más de 100 millones de consumidores que demandan, en promedio, 30.8 g al día (Torres-Sandoval *et al.*, 2008).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Descripción del sitio

El presente trabajo se realizó en el 2013- 2014 en dos fases:

La primera se llevó a cabo en el invernadero del centro de investigación y de estudios avanzados (CINVESTAV) ubicado en el municipio de Ramos Arizpe en el Estado de Coahuila, México, el invernadero cuenta con una orientación Norte-Sur y la humedad relativa se mantiene normalmente en un 70%.

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

### Establecimiento de cultivos

Para el establecimiento de los cultivos en el invernadero se utilizó semilla de frijol de la variedad Pinto Saltillo, Proporcionada por el INIFAP, la semilla de maíz utilizada fue la variedad Antonio Narro (VAN-210) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Se sembraron dos semillas por bolsa de dichos cultivos en bolsas de polietileno de 22 x 42 cm, la cantidad de suelo utilizado por bolsa fue de 7 kilos previamente tamizado, estableciéndose un total de 36 bolsas 22 para maíz y 14 para Frijol.

### Riegos y aplicación de nanopartículas

Se utilizaron las nanopartículas de Óxido de zinc (ZnO), Dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>), magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), Ferrihidrita (FeOOH) y hematita (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) las cuales se prepararon en solución, disolviendo 60 y 30 gramos de nanopartículas, en 10 litros de

agua desionizada para obtener las concentraciones de 6 g/l y 3 g/l respectivamente quedando de la siguiente manera, para Maíz se establecieron 11 tratamientos, en frijol fueron 7 tratamientos (Cuadro 1). Las aplicaciones de nanopartículas fueron de 300 ml al suelo contenido en las bolsas de acuerdo al tratamiento, dichas aplicaciones se llevaron a cabo cada 15 días, las nanopartículas que se utilizaron se obtuvieron de la empresa Materiales Nanoestructurados S.A de C.V.

Los riegos en frijol fueron cada dos días, para el maíz los riegos fueron diarios, de acuerdo a la demanda de agua de cada cultivo.

Cuadro 1.- Aplicación de Nanopartículas en g/l en plantas de maíz y frijol

Maíz	Nanopartículas	g/l	Frijol	Nanopartículas	g/l
T1	control		T1	control	
T2	Magnetita	3	T2	Magnetita	3
T3	Magnetita	6	T3	Magnetita	6
T4.	Hematita	3	T4.	Hematita	3
T5	Hematita	6	T5	Hematita	6
T6	Ferrihidrita	3	T6	Ferrihidrita	3
T7	Ferrihidrita	6	T7	Ferrihidrita	6
T8	Óxido de zinc	3			
T9	Óxido de zinc	6			
T10	Dióxido de titanio	3			
T11	Dióxido de titanio	6			

## Manejo de los cultivo

Para garantizar el desarrollo del cultivo se realizaron supervisiones diarias con la finalidad de identificar algún problema en las plantas, como posibles enfermedades, plagas o algún tipo de estrés.

## Análisis de biomasa

### Variables evaluadas para biomasa

Para determinar la biomasa se evaluaron las siguientes variables: peso fresco, peso seco y longitud de raíz y peso fresco, peso seco y longitud de parte aérea.

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

Las muestras obtenidas de maíz y de frijol a 23 y a 73 días se midió el peso fresco tanto de la parte aérea como de la raíz de las plantas, se etiquetaron y posteriormente fueron colocadas en una estufa marca Felissa 2000 por tres días a 75°C y se volvió a pesar para obtener el peso seco, esto con la finalidad de conocer la producción de biomasa de los diferentes cultivos en cada tratamiento.

### Longitud de la parte aérea y la raíz

Durante el muestreo se midió la longitud tanto de la raíz como de la parte aérea, tomando como base el inicio del tallo, y el final de esta en el caso de la parte aérea, y para la longitud de la raíz se tomó como referencia el inicio del tallo hasta la parte final de las raíces.

## Análisis Histológico de tallo y raíz

### VARIABLES ANALIZADAS EN HISTOLOGÍA

Se evaluó para raíz de maíz el área del haz vascular, el área de vasos del xilema y el número de vasos de xilema en tallo se evaluó el área de vasos de xilema y el número de vasos, en frijol se analizó para raíz el área del haz vascular y el área de vasos de xilema, en tallo se evaluó el grosor de la epidermis y el área de vasos de xilema

### TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de tejidos de cada tratamiento se tomaron a los 23 y 73 días después de la siembra para maíz y frijol respectivamente de la siguiente forma: se cortaron 11 muestras de maíz y 7 de frijol de tallo y de raíz, las muestras se tomaron a 5 cm después del inicio de la raíz y a 5 cm del inicio del tallo, Para el estudio histológico se utilizó la técnica de la parafina como sigue:

### FIJACIÓN

Para conservar los tejidos con un mínimo de alteraciones se procedió a la fijación, colocando los tallos y las raíces de maíz y frijol, en frasco de vidrio con capacidad de 14 ml con fijador Formaldehído Ácido Acético Glacial (FAA), 5 ml de formaldehído, 5 ml de ácido acético glacial y 90 ml de alcohol etílico al 70%. En el que permanecieron como mínimo ocho días.

### DESHIDRATACIÓN

Después de la fijación hay que quitar el agua de los tejidos para esto se pasarán los tejidos por diferentes agentes deshidratantes y aclarantes, con intervalos de tiempos como se describe en el Cuadro 2.

Cuadro2. Proceso de deshidratación

Preparación	Tiempo
Alcohol 96 + eosina	2 Hrs
Alcohol 96 + eosina	2 Hrs
Alcohol absoluto I	2 Hrs
Alcohol absoluto II	2 Hrs
Alcohol absoluto + xilol	2 Hrs
Alcohol absoluto (3) + xilol (1)	2 Hrs
Alcohol absoluto (1) + xilol (1)	2 Hrs
Alcohol absoluto (1) + xilol (3)	2 Hrs
Xilol puro	2 Hrs
Xilol puro + parafina + estufa a 35°C	24 Hrs
Xilol puro + parafina + estufa a 45°C	24 Hrs
Parafina pura 1er cambio a 55°C	24 Hrs
Parafina pura 2do cambio	24 Hrs

#### Inclusión

Después de la deshidratación los tejidos se colocaron en frascos con xilol, posteriormente se pasaron a estufa a 30 °C, agregando parafina y ahí permanecieron por 24 horas a la misma temperatura, después se cambiaron a 45 °C agregando parafina hasta saturar, en seguida se sube la temperatura a 55°C y la mezcla xilol y parafina se decanta y al tejido que quede se le agrega parafina pura derretida y se vacía a moldes de aluminio grueso de 9 x 11 cm, en donde con una aguja de disección caliente se acomodaron dos tejidos en forma transversal, en seguida se colocaron etiquetas con el correspondiente tratamiento y fecha de colecta, posteriormente se dejan solidificar para sacar los cuadros de parafina con los tejidos, terminada la inclusión se dejó secar las muestras por un día, para todo el proceso se utilizó una estufa GCA precisión scientific THELCO modelo 18

### Cortes en micrótopo

Cuando las muestras estuvieron completamente solidas se retiró el aluminio y se cortaron en cuadros que contenían una muestra, dándole forma con ayuda de una navaja, después dichos cuadros se montaron en la platina del micrótopo de mano "820" Spencer American Optical, para su seccionamiento los tejidos se nivelaron y se orientaron hacia la cuchilla previamente limpia, el micrótopo se gradúo a 20 micras de grosor y se giró la manivela para obtener una tira larga de parafina con los cortes.

### Montaje de tejidos en portaobjetos

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

### Coloración

Para la coloración se prepararon una serie de reactivos en frascos coplin con capacidad para ocho portaobjetos donde se colocaron las preparaciones de manera que el tejido quedara hacia la izquierda, esto para poder identificar la muestra; con la ayuda de unas pinzas las preparaciones se pasaron por el primer frasco que contiene xilol puro (para quitar la parafina) por un lapso de 10 minutos, posteriormente se enjuagaron con alcohol etílico absoluto al 96%,85%,70%, 60% y 50% y enjuague con

agua destilada y después colocadas en una solución de safranina al 1% (1 g de safranina por cada 100 ml de agua destilada) durante 15 minutos; concluido este tiempo las preparaciones se pasaron por una serie de enjuagues: agua normal, agua destilada, alcohol etílico al 50%, 60%, 70%, 85% y 96% respectivamente, posteriormente los tejidos se pasaron al colorante verde rápido al 0.5% (0.5 g en 100 ml de alcohol de 96%) por espacio de 5 a 7 segundos hasta que se tiñeron de rojo los tejidos diferenciados y de verde los no diferenciados, después se enjuagaron en alcohol etílico de 96%, alcohol absoluto y alcohol absoluto II, posteriormente pasaron a solución carbol-xilol por 5 minutos para fijar los colores, por último se colocaron en xilol puro (con el fin de eliminar totalmente la parafina).

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

### Análisis de imágenes

Los tejidos se analizaron al microscopio primero a menor aumento 5X para seleccionar las mejores muestras de cada portaobjetos, obtenida la selección de las muestras fueron observadas con los objetivos a 5X, 10X y 40X en cada observación se tomó una fotografía la cual sirvió para identificar las variables de micromorfología como son para raíz de maíz el área del haz vascular, el área de vasos del xilema y el número de vasos de xilema en tallo se evaluó el área de vasos de xilema y el número

de vasos, en frijol se analizó para raíz el área del haz vascular y el área de vasos de xilema, en tallo se evaluó el área de vasos de xilema, dando un total de 15 fotografías por cada tratamiento, se seleccionaron los tejidos donde se observaba mejor el desarrollo del tallo y de la raíz a nivel histológico de plantas de maíz y frijol. Se utilizó un microscopio Vista Visión con cámara digital Pixera Winder Pro y un software de medición Axion-Vision versión 4.8 con objetivos de 5 X 10 X y 40X.

Los datos de cada uno de los tratamientos de maíz y frijol obtenidos a los 23 y 73 días respectivamente fueron analizados comparando los resultados de 23 y 73 días de cada una de las variables de biomasa y micromorfológicas, usando el programa de Excel se elaboraron cuadros comparativos y graficas de los resultados y se comparó con el testigo con las diferentes nanopartícula.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente proyecto demuestran que las nanopartículas actúan de acuerdo al tipo de cultivo, a la concentración y el tipo de nanopartícula que se incorporan a las plantas afectando principalmente a la biomasa y a la micromorfología de la planta de maíz y de frijol. Xingmao *et al.* (2010), mencionan que para la mayoría de las nanopartículas son necesarias concentraciones altas para observar un efecto en las plantas, y el umbral en cuanto a concentración de estas depende de la especie. Muchos trabajos no muestran resultados significativos en presencia de nanopartículas, pero los efectos son más notorios cuando estas nanopartículas son acompañadas por un estabilizador.

### Biomasa en raíz de Maíz y Frijol

Cuadro 3. Cuadro comparativo de variables de biomasa de raíz en el cultivo de maíz a 23 y 73 días de crecimiento.

Clave	Raíz de maíz a 23 días			Raíz de maíz a 73 días		
	Peso fresco (g)	peso seco (g)	longitud (cm)	Peso fresco (g)	peso seco (g)	longitud (cm)
0g	0.47	0.22	16.5	64.37	6.37	68
Ma3g	0.61	0.31	12	82.4	11.01	55
Ma6g	0.66	0.24	20.5	36.18	10.26	53
He3g	0.38	0.23	14	47.22	8.3	75
He6g	0.56	0.22	19	34.06	5.65	40
Fe3g	0.75	0.35	17.5	66.47	9.94	55
Fe6g	0.54	0.26	16	65.75	8.63	65
Zn3g	0.26	0.18	4	66.85	8.9	44
Zn6g	0.65	0.29	24.5	96.76	21.82	49
Ti3g	0.55	0.33	26	77.44	16.14	48
Ti6g	0.46	0.24	22	59.88	13.72	53

0g: Testigo, Ma: Magnetita, He: Hematita, Fe: Ferrihidrita, Zn: Óxido de Zinc Ti: Dióxido de Titanio. 6g: 6 gr/l, 3g: 3 gr/L

Cuadro 4. Cuadro comparativo de variables de biomasa de raíz en el cultivo de frijol a 23 y 73 días de crecimiento.

Clave	Raíz de frijol a 23 días			Raíz de frijol a 73 días		
	Peso fresco (g)	peso seco (g)	longitud (cm)	Peso fresco (g)	peso seco (g)	longitud (cm)
0g	0.23	0.12	8	1.33	0.47	9
Ma3g	0	0	0	3.01	0.64	10
Ma6g	0.28	0.19	12.5	2.78	0.65	17
He3g	1.12	0.22	12	0.98	0.3	12
He6g	1.27	0.37	13.5	4.3	0.77	19
Fe3g	0.68	0.22	15.5	1.67	0.52	10
Fe6g	0.13	0.09	6	2.94	0.74	13

0g: Testigo, Ma: Magnetita, He: Hematita, Fe: Ferrihidrita., 6g: 6 gr/l, 3g: 3 gr/L

#### Peso fresco de la raíz de maíz y frijol

En maíz Cuadro 3, se muestra que la aplicación de nanopartículas de ferrihidrita a concentración de 3 g/l presentó un peso fresco de raíz de 0.75 g superando al testigo en un 59.57% esto comprueba que al aplicar la nanopartícula provoca que se estimule el crecimiento de la raíz del maíz, sin embargo a 73 días de crecimiento al aplicar nanopartículas de óxido de zinc a concentración de 6 g/l la planta supera al testigo en un 50.31% su peso fresco (Figura 6).

El cuadro 4 muestra a 23 días que al aplicar a la planta de frijol nanopartículas de hematita a concentración de 6 g/l la planta presenta un peso fresco de 1.27 g superando al testigo en un 452.17% (figura 6). El frijol a 73 días de crecimiento la planta al estar suministrando nanopartículas de hematita a concentración de 6 g/l la planta genera 223.30% mayor peso fresco que el (Figura 7). Las condiciones de la interfase raíz-suelo (rizosfera) pueden ser modificadas por la planta, a través de producción de exudados radicales y la acción de deposiciones como mucílago y restos celulares (Adriano, 2001). Se encontró que los metales el zinc, níquel y plomo afectan el crecimiento de plantas de *Arabidopsis*, inhibiendo el crecimiento de la raíz primaria

a bajas concentraciones y a concentraciones mayores afectando el desarrollo del follaje y la producción de raíces laterales (Vargas-Palomino et al., 2007).

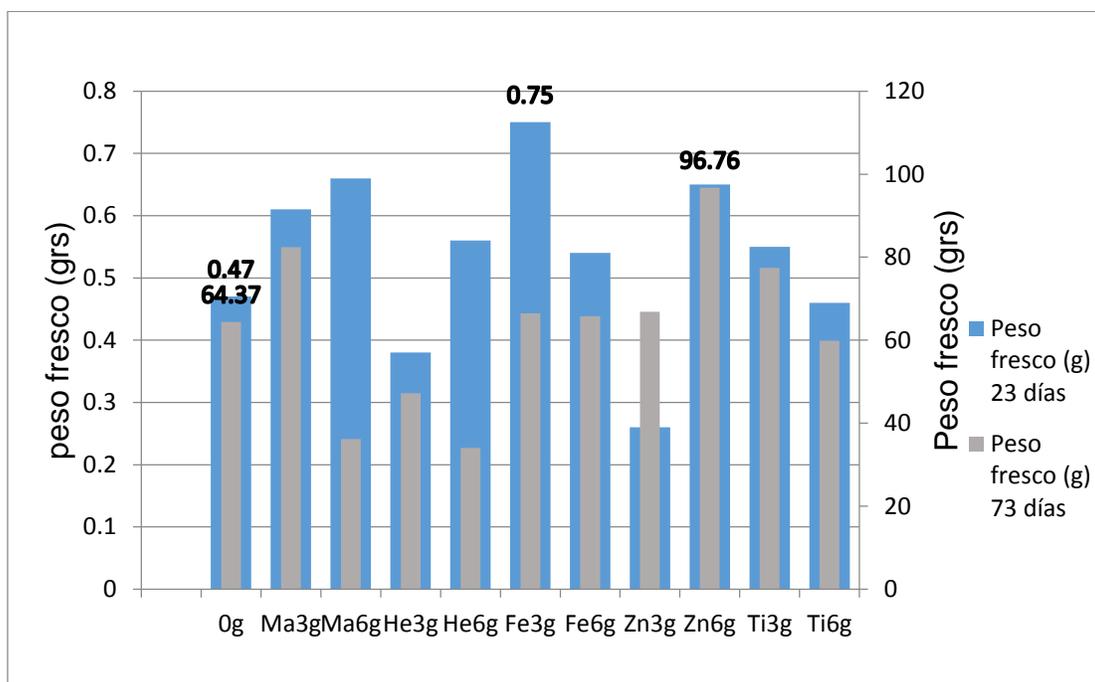


Figura 6. Peso fresco de raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones

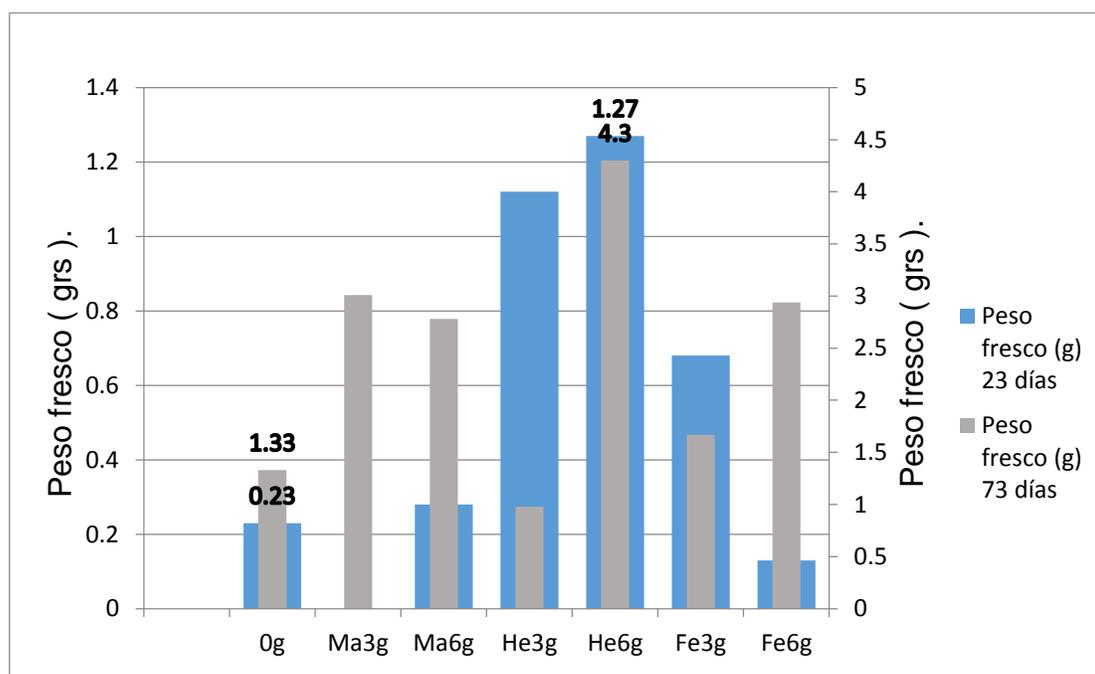
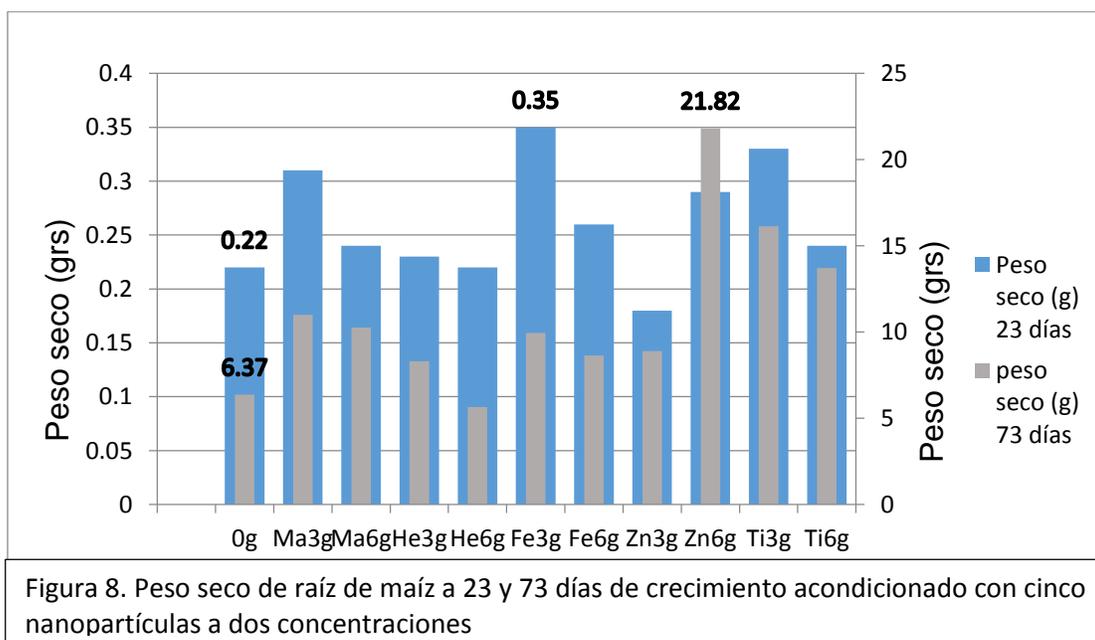


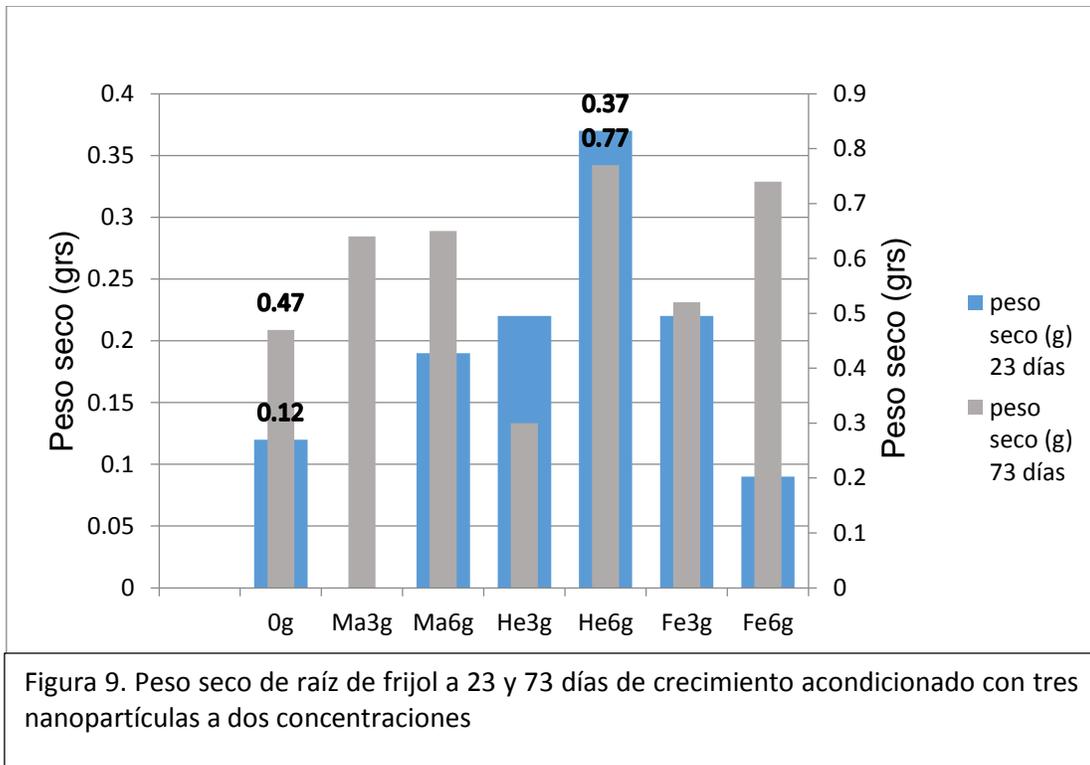
Figura7. Peso fresco de raíz de frijol a 23 y 73 días de crecimiento con tres nanopartículas a dos concentraciones

## Peso seco de la raíz de maíz y frijol

La aplicación de nanopartículas de ferrihidrita en el maíz a concentración de 3 g/l presentó un peso seco a 23 días de crecimiento de 0.35 g superando al testigo en un 59%. A 73 días el maíz aumento su crecimiento al aplicar óxido de zinc a concentración de 6 g/l superando al testigo en un 242.54% (figura 8).

A 23 días el frijol al condicionar a la planta con nanopartículas de hematita a concentración de 6 g/l aumenta un 208.33% comparado con el testigo. Las plantas de frijol a 73 días la nanopartícula de hematita a 6 g /l aumento su crecimiento en un 63.82% comparado con el (Figura 9). Fernández-Luqueño *et al.*, (2014) mencionan que los iones alcanzan la zona de absorción de la raíz por difusión a través de la solución del suelo, son arrastrados por el movimiento del agua hacia la raíz o entran en contacto con la zona de absorción a medida que la raíz crece. Brooks, (1998) establece el concepto de "planta hiperacumuladora" para describir a aquellas plantas que contenían niveles de níquel equivalentes o superiores a 1000 microgramos de metal por gramo de materia seca (0,1% ó 1000 mg kg<sup>-1</sup>).





#### Longitud de raíz de maíz y frijol.

El maíz a 23 días presenta una longitud de 26 cm al aplicar nanopartículas de Dióxido de Titanio a concentración de 3 g/l supera al testigo en un 57.57%. A 73 días las plantas obtuvieron un crecimiento radicular de 10.29% más que el testigo al acondicionar de nanopartícula de hematita a 3 g/l (figura 10).

El frijol presentó a 23 días un crecimiento radicular del 93.75% más que el testigo al aplicar nanopartículas de ferrihidrita a concentración de 3 g/l. A 73 días las plantas aumentaron su longitud radicular al aplicar nanopartículas de hematita a concentración de 6 g/l superando al testigo un 111.11% (figura 11). Estos resultados coinciden con los de Lin y Xing (2008) quienes encontraron que nanopartículas de óxido de zinc administradas a *Lolium perenne* L. (ryegrass) en concentraciones de 8-1,000 mg L<sup>-1</sup>, se translocaron en la endodermis y células de la planta, además provocó

daño severo en la raíz, causando gran inhibición del crecimiento de la planta. La mayoría de los estudios realizados en plantas demuestran que existe una fitotoxicidad hacia las nanopartículas, sobre todo en altas concentraciones. Nanotubos mono capa de carbono mostraron afectaciones significativas en la zona de elongación radicular de cultivos como tomate, repollo, zanahoria y lechuga (Cañas *et al.*, 2008). Otros estudios demostraron que pequeñas concentraciones de nanopartículas de plata Ag, afectan a la especie *Arabidopsis thaliana* L. que presenta una raíz semejante a *Phaseolus radiatus* L. (Lee *et al.*, 2008).

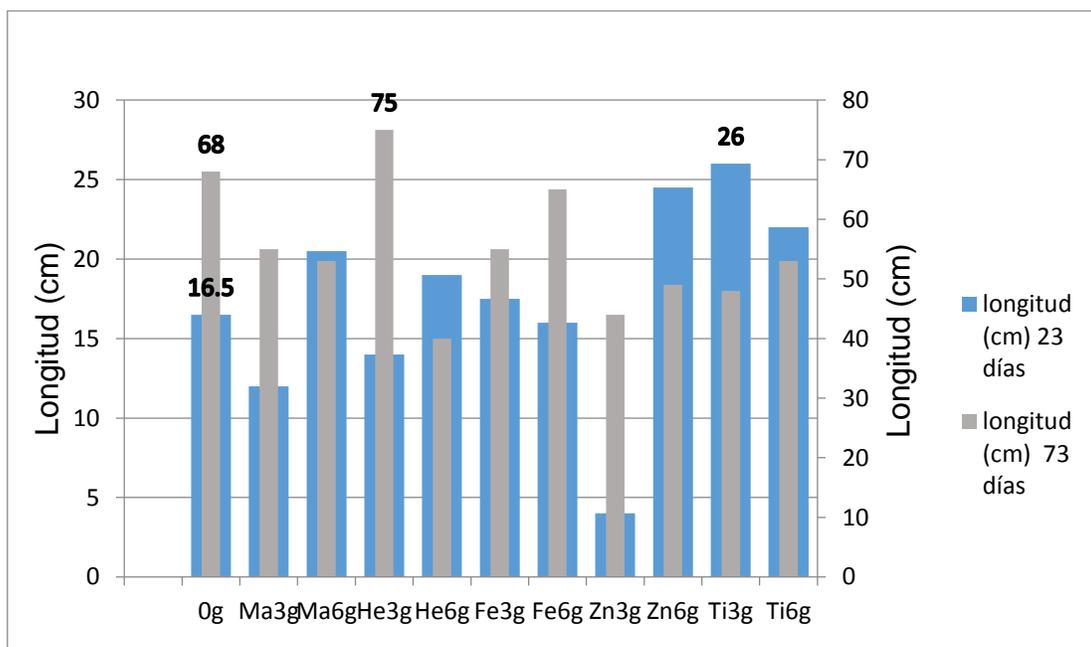
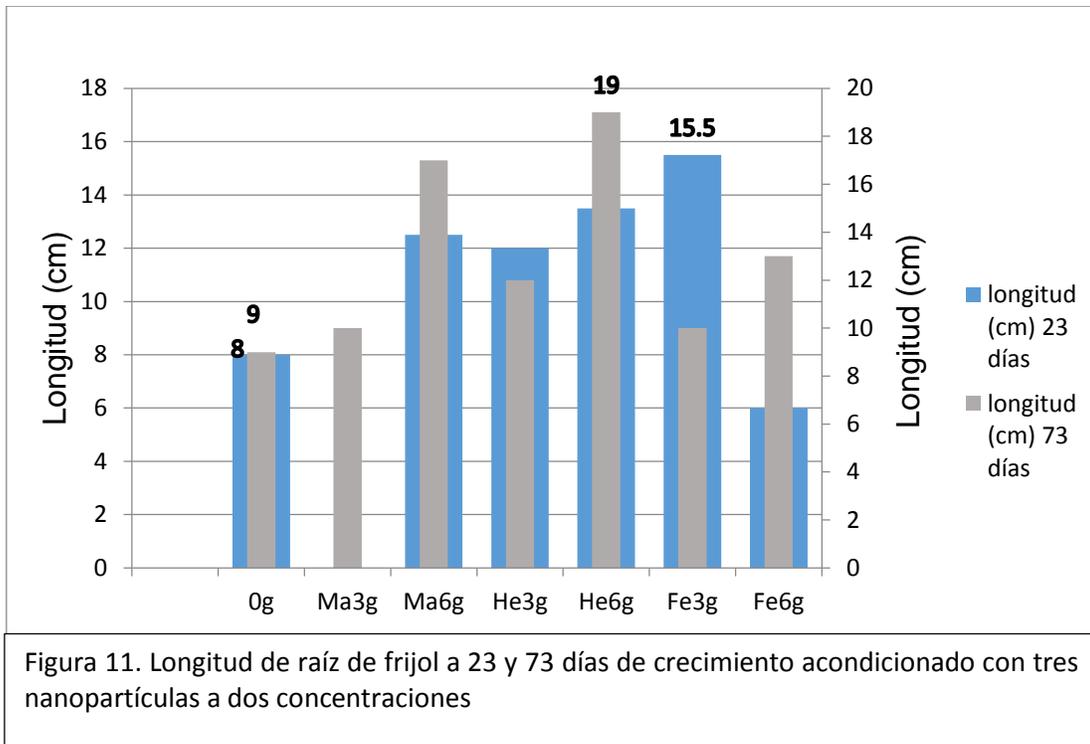


Figura 10. Longitud de raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones



### Parte aérea de plantas de maíz y frijol

Existen varias rutas por las que se puede absorber o asociar las nanopartículas con la planta. La parte aérea de la planta facilita la interacción con nanopartículas presentes en el aire. Las plantas hiperacumuladoras adecuadas para llevar a cabo acciones de fitoextracción deben cumplir algunas características como la tolerancia al metal que se desea eliminar, que la acumulación se produzca fundamentalmente en la parte aérea de la planta, y que presenten un rápido crecimiento, así como una gran producción de biomasa en la parte aérea (Brooks, 1998).

Cuadro 5. Cuadro comparativo de variables de biomasa de parte aérea en el cultivo de maíz a 23 y 73 días de crecimiento.

Clave	parte aérea de maíz a 23 días			parte aérea de maíz a 73 días		
	Peso fresco (g)	peso seco (g)	longitud (cm)	Peso fresco (g)	peso seco (g)	longitud (cm)
0g	0.93	0.19	11	131.91	21.15	80
Ma3g	1.18	0.23	10	135.94	19.42	75
Ma6g	1.09	0.21	8.5	136.58	20.71	85
He3g	0.64	0.15	8.5	128.5	19.21	103
He6g	0.68	0.12	8.5	118.36	23.75	80
Fe3g	0.41	0.09	7.5	145.09	24.88	75
Fe6g	1.06	0.22	8.5	134.35	21.42	68
Zn3g	0.7	0.14	7.5	152.92	26.09	85
Zn6g	1.17	0.25	7.5	85.27	13.71	75
Ti3g	0.51	0.09	5.5	174.36	31.2	105
Ti6g	0.46	0.11	8.5	118.89	18.43	85

0g: Testigo, Ma: Magnetita, He: Hematita, Fe: Ferrihidrita, Zn: Óxido de Zinc Ti: Dióxido de Titanio. 6g: 6 gr/l, 3g: 3 gr/L

Cuadro 6. Cuadro comparativo de variables de biomasa de parte aérea en el cultivo de frijol a 23 y 73 días de crecimiento.

Clave	Parte aérea de frijol a 23 días			parte aérea de frijol a 73 días		
	Peso fresco (g)	peso seco (g)	longitud (cm)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Longitud (cm)
0g	1.42	0.17	7	8.32	1.74	22.5
Ma3g	0	0	0	2.91	0.83	18
Ma6g	1.37	0.24	6	8.62	1.38	19.5
He3g	2.09	0.31	8	9.19	1.62	20
He6g	2.47	0.34	9	17.99	2.62	22.4
Fe3g	1.77	0.3	8	6.64	1.3	25
Fe6g	1.24	0.17	7.5	11.71	1.89	23

0g: Testigo, Ma: Magnetita, He: Hematita, Fe: Ferrihidrita. 6g: 6 gr/l, 3g: 3 gr/L

#### Peso fresco de la parte aérea de maíz y frijol

A 23 días la planta de maíz acondicionada con nanopartículas de magnetita a concentración de 3 g/l aumento su peso fresco en un 26.88% comparado con el testigo. El maíz a 73 días aumenta su peso fresco en un 32.18% comparado con el

testigo al suministrar nanopartícula de dióxido de titanio a concentración de 3 g/l (Figura 12).

En plantas de frijol al aplicar nanopartículas de hematita a concentración de 6 g/l aumenta su peso fresco en un 73.94% comparado con el testigo. A 73 días las plantas de frijol aumentaron su peso fresco en un 116.22% comparadas con el testigo en la plántula acondicionada con hematita a 6 g/l (figura 13). Se ha demostrado que nanopartículas de óxidos metálicos como por ejemplo de cobre, son tóxicos para dos especies de plantas, el trigo (*Triticum aestivum* L.) y *Phaseolus radiatus* L. ya que redujeron el índice de crecimiento en plántulas de estas dos especies. *Phaseolus radiatus* L. mostro mayor sensibilidad a las nanopartículas y esto se atribuye a la diferente anatomía y estructura de la raíz de ambas especies, Otros estudios demostraron que pequeñas concentraciones de nanopartículas de plata Ag, afectan a la especie *Arabidopsis thaliana* L (Lee et al., 2008).

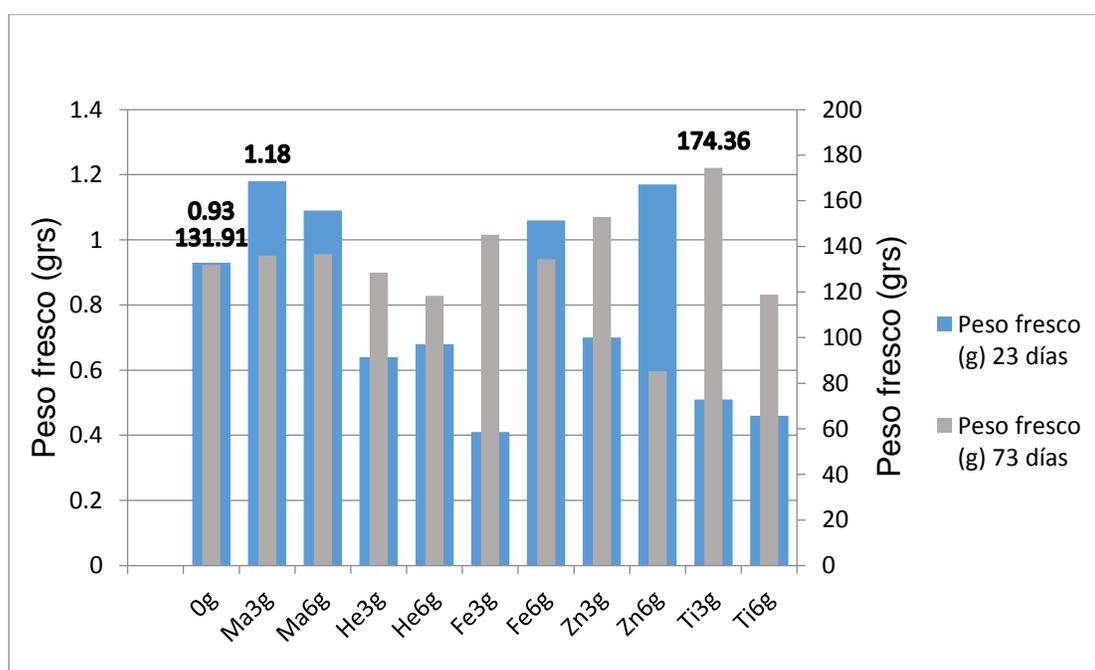
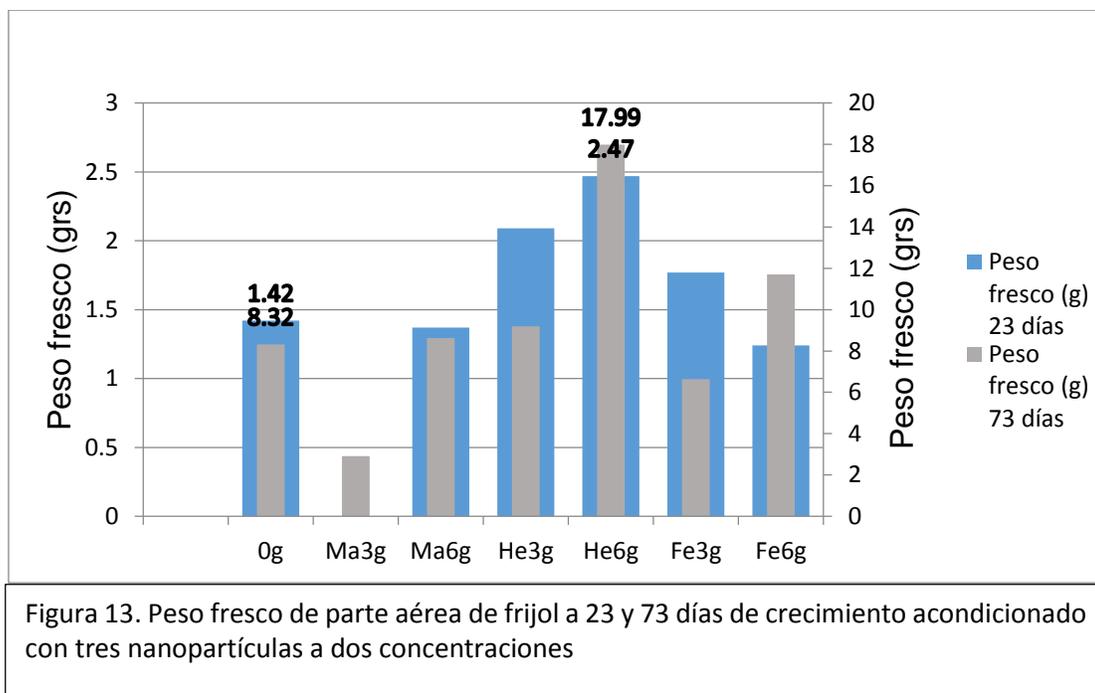


Figura 12. Peso fresco de parte aérea de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones



#### Peso seco de la parte aérea de maíz y frijol.

El maíz a 23 días presenta un mayor peso seco de la parte aérea de la planta al suministrar nanopartículas de óxido de zinc a concentración de 6 g/l superando al testigo en un 31.57%. A 73 días la planta aumenta su peso seco en un 47.51% con la nanopartícula de dióxido de titanio a concentración de 3 g/l comparado con el testigo (figura 14).

El frijol a 23 días la nanopartícula de hematita a concentración de 6 g/l al ser suministrada a la planta provocó que el peso seco de la planta superara al testigo en un 100%. A 73 días la hematita a 3 g/l aumentó su peso seco de la planta en un 50.57% comparado con el testigo (figura 15). En cualquier etapa del crecimiento, el ambiente puede alterar el porcentaje de materia seca en el cultivo. Si la planta está sometida a una fuerte demanda evaporativa, su contenido de agua puede disminuir un 10% durante el llenado y tal vez un 15% en la etapa posterior a la floración (Loomis y

Connor, 1992). En plántulas de maíz se reportó mayor contenido de humedad con nanopartículas de AgNO<sub>3</sub> (168,7% - en peso seco.) o citrato-NAG (163,9% - peso seco.) De tratamiento en comparación con el control (147,3% - seca en peso.) (Pokhrel y Dubey 2013).

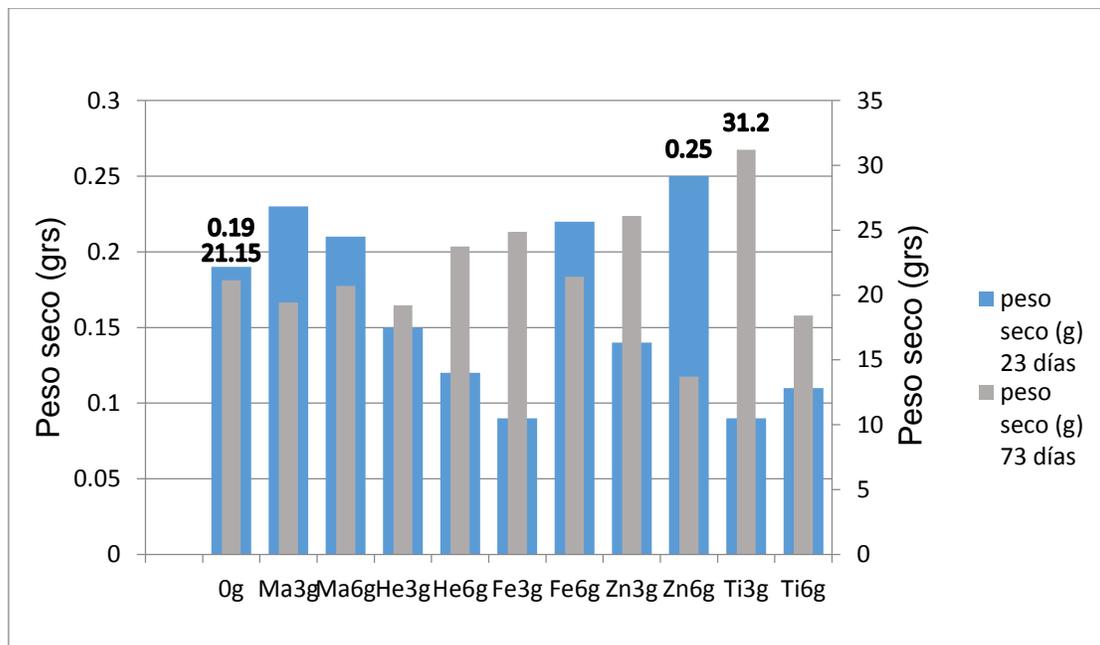


Figura 14. Peso seco de parte aérea de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones

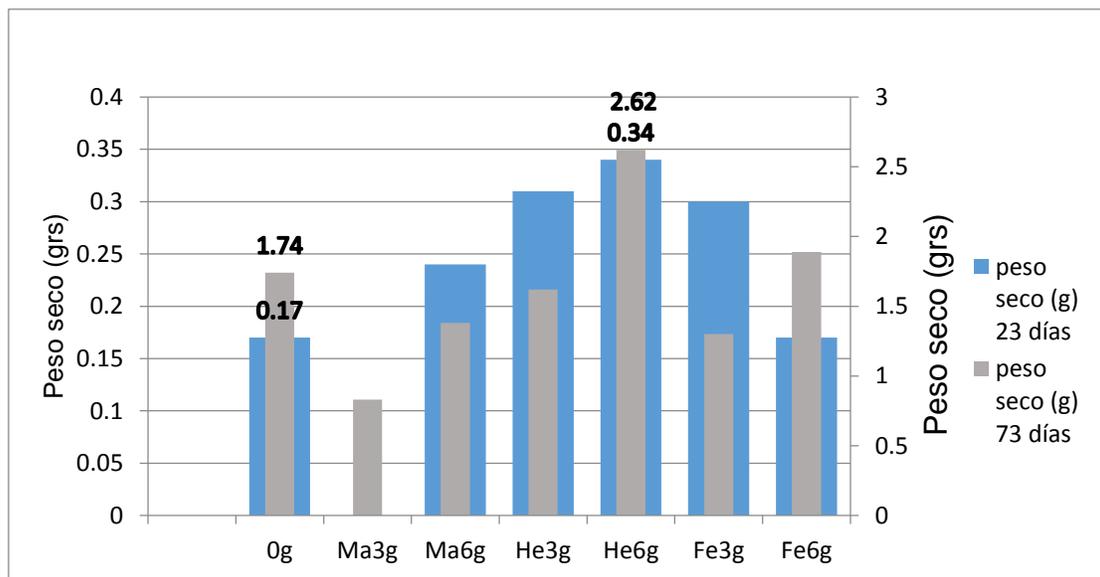


Figura 15. Peso fresco de parte aérea de frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones.

## Longitud de la parte aérea de la planta de maíz y frijol

La planta de maíz a 23 días la planta al aplicar nanopartículas a diferentes concentraciones provoca que la planta disminuya su crecimiento el cual el testigo es el que presenta mayor tamaño con 11 cm de longitud. A 73 días las plantas aumentan su tamaño superando al testigo en un 31.25% con la nanopartícula de dióxido de titanio a concentración de 3 g/l (figura 16).

El frijol a 23 días al aplicarle la nanopartícula de hematita a 6 g/l supero al testigo en un 28.57% la longitud de la parte aérea. A 73 días la nanopartícula de ferrihidrita supero al testigo en longitud de la planta en un 111.11 % (figura 17). Fernández-López (2009), indicó que se ha encontrado ferritina en los cloroplastos de la planta, estas proteínas tienen la función de almacenar el hierro, está compuesta principalmente de magnetita y ferrihidrita, se encuentran en los organelos, principalmente en los cloroplastos y liberan el Fe de acuerdo a las necesidades metabólicas de las plantas. Conforme se elimina el Fe, las concentraciones de magnetita en la ferritina aumentan y la ferrihidrita disminuye, esto puede explicar que la adición de ferrihidrita al suelo favorezca la altura de la planta. Existen varias rutas por las que se puede absorber o asociar las nanopartículas con la planta. La parte aérea de la planta facilita la interacción con nanopartículas presentes en el aire (Karl-Josef y Herth, 2011). Las plantas denominadas fitorremediadoras, poseen como atributos ideales la capacidad de acumular los metales de interés, en la parte superior de la planta; son tolerantes a la concentración del metal acumulado, crecen rápido y generan elevada producción de biomasa (Benavides-Mendoza, 2009).

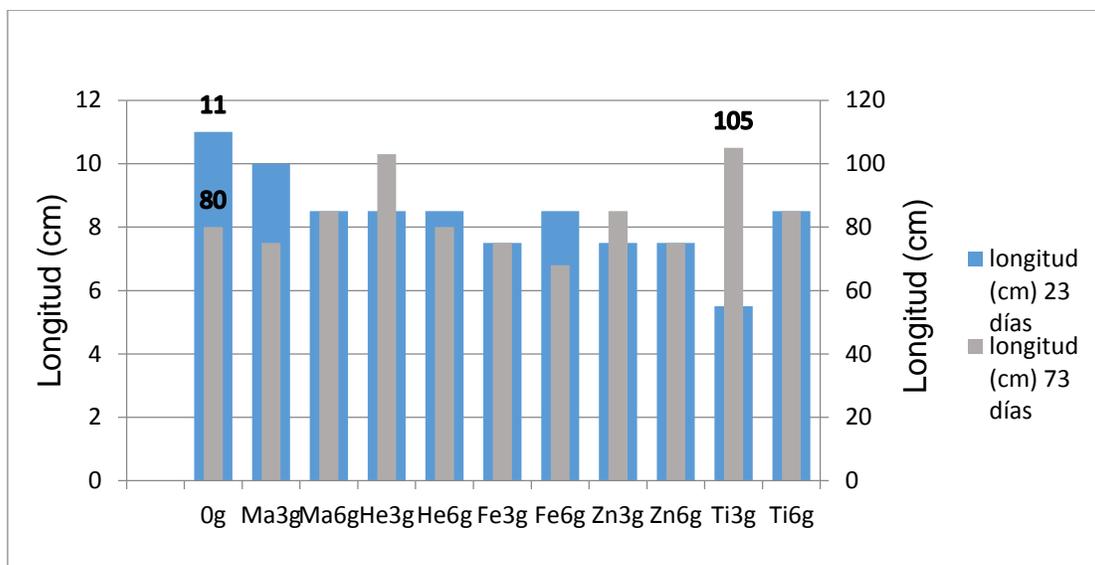


Figura 16. Peso seco de parte aérea de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.

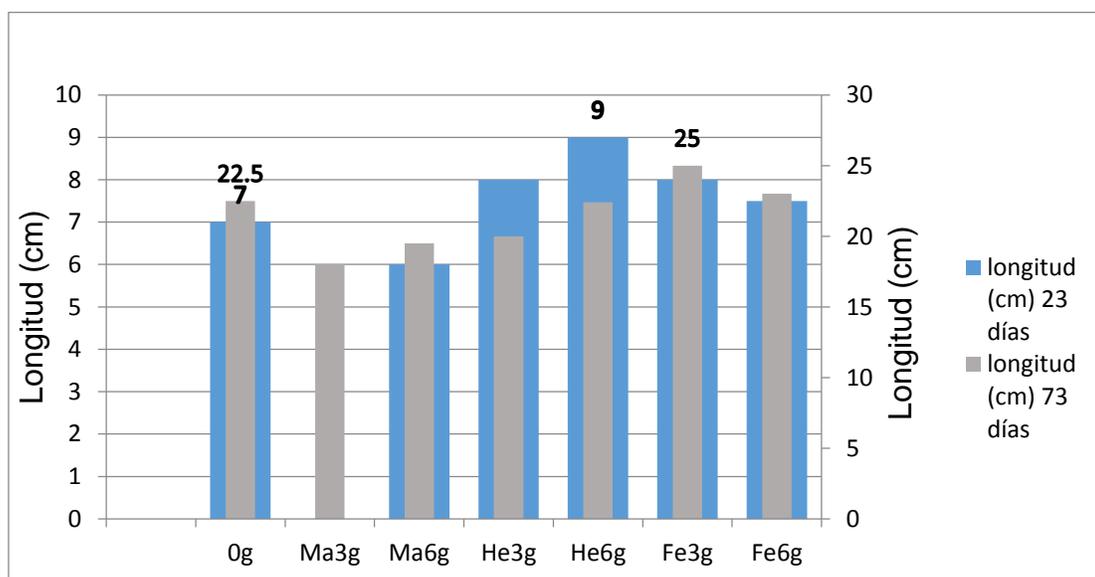


Figura 17. Peso fresco de parte aérea de frijol a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con tres nanopartículas a dos concentraciones.

### Análisis Histológico de Maíz y Frijol

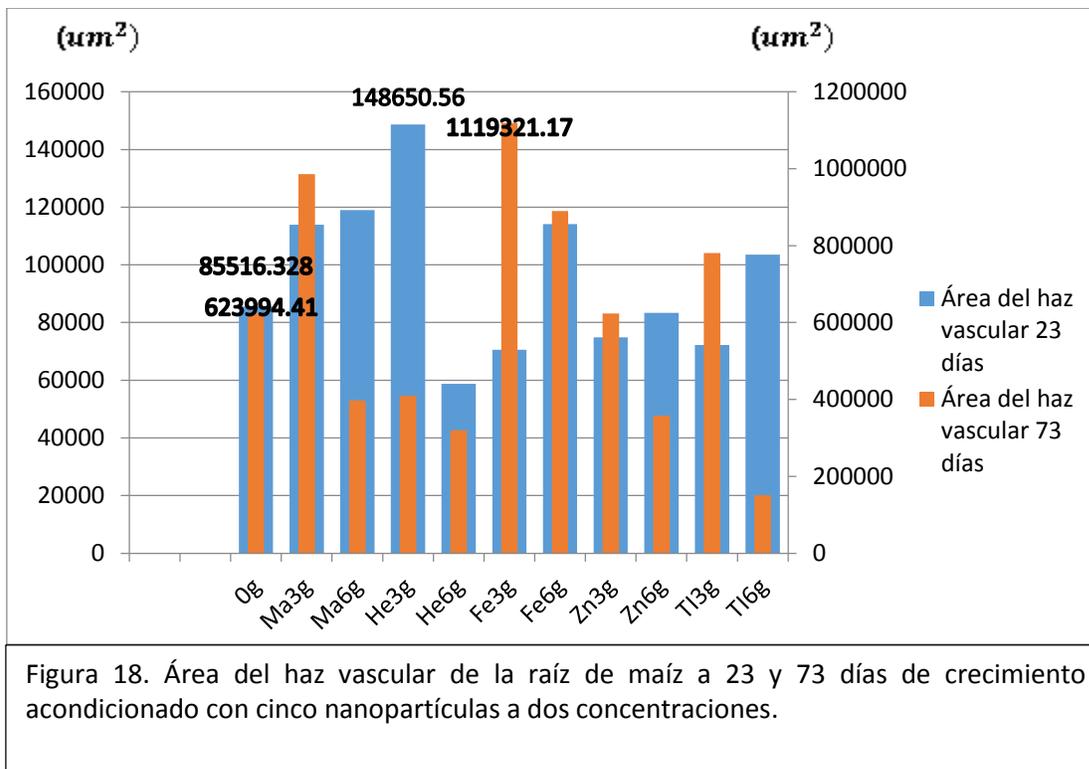
Resultados sobre la micromorfología en raíz y en el tallo de las plantas de maíz y frijol a 23 y 73 días de crecimiento por efecto de la aplicación de nanopartículas

afectaron principalmente el haz vascular del xilema afectando el área, ancho de la epidermis y el número de vasos del maíz y frijol. Estudios sobre la toxicidad de las nanopartículas de CuO en el maíz (*Zea mays* L.) en su transporte y redistribución en la planta el CuO (100 mg/l) no tuvo efecto sobre la germinación, pero inhibieron el crecimiento de las plántulas de maíz; en comparación a los iones  $Cu^{2+}$  disueltos y partículas a granel CuO no tuvieron ningún efecto evidente en el crecimiento del maíz. Las nanopartículas estaban presentes en la savia del xilema como examinadas por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y espectroscopia de energía dispersiva (EDS), mostrando que CuO PN fueron transportados desde la raíz hasta a través del xilema (Wang *et al.*, 2012).

#### Micromorfología en maíz

##### Área del haz vascular de raíz de maíz.

El maíz a 23 días de crecimiento el área del haz vascular aumenta su tamaño al aplicar nanopartículas de hematita a concentración de 3 g/l superando al testigo en un 73.82%. A 73 días la nanopartícula de ferrihidrita a concentración de 3 g/l aumento el tamaño del haz vascular en un 79.37% comparado con el testigo (Figura 18). En un trabajo realizado por Sory *et al.*, (2010) se encontró que fue significativamente mayor el tamaño de los vasos del xilema al injertarlos con el porta injertó 'Criollo de Honduras', lo que significa que fue mejor realizar los injertos en 'Charleston F1' y 'Sun 7705', no así para 'Reseva F1'. Esto nos muestra cómo se puede incrementar el área del haz vascular con la aplicación de la nanopartícula ferretita a una concentración baja que podrían resultar en un mejor desarrollo y producción, dada por la importancia de estos tejidos en la conducción de agua y nutrientes para la planta.



#### Área de vasos de xilema de raíz de maíz.

A 23 días el maíz al aplicar nanopartículas de magnetita a concentración de 3 g/l aumento un 389% más área de vasos de xilema que el testigo. A 73 días al aplicar a la planta nanopartículas de magnetita a concentración de 6 g/l aumentó en un 178.09% más área del xilema que el testigo (Figura 19). Raggio y Moro (2004) mencionan que la salinidad modificó la distribución de frecuencias de los diámetros internos de los elementos conductores del xilema. El 46,32% de los vasos en las plantas Ct presentaron diámetros en el rango de 5 a 10 mm, en tanto que el 31,5% de los vasos se encuentran distribuidos uniformemente en el intervalo de 20 a 40  $\mu\text{m}$ . Esta distribución cambió para las plantas C18 puesto que se diferencian dos grupos de vasos predominantes, uno con el 38,27% de los vasos centrado en diámetros de 0 a 5 mm y otro con el 23,46% de los vasos con diámetros entre 30 a 35  $\mu\text{m}$ .

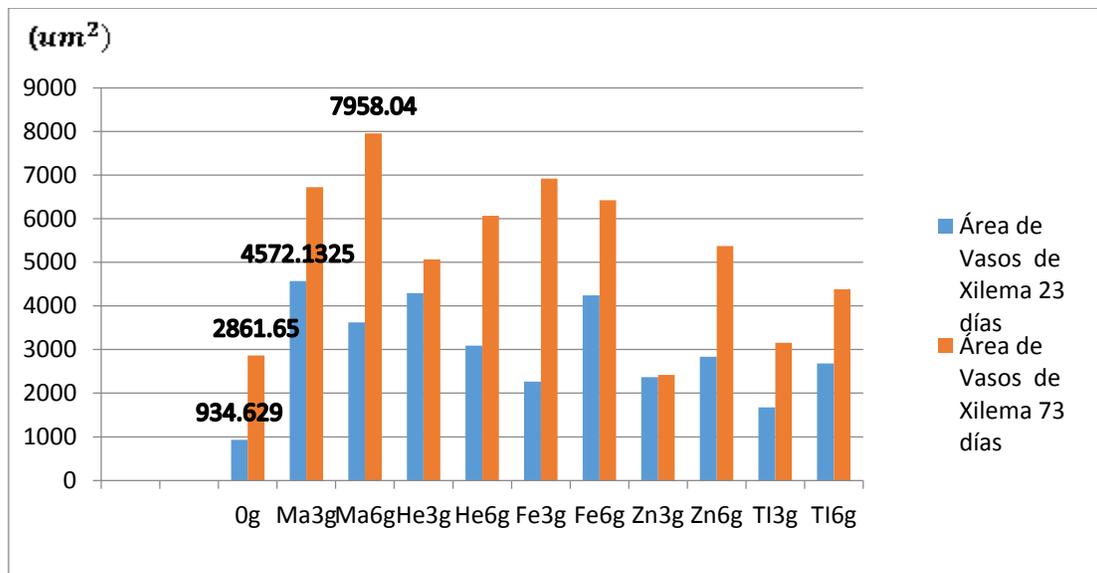
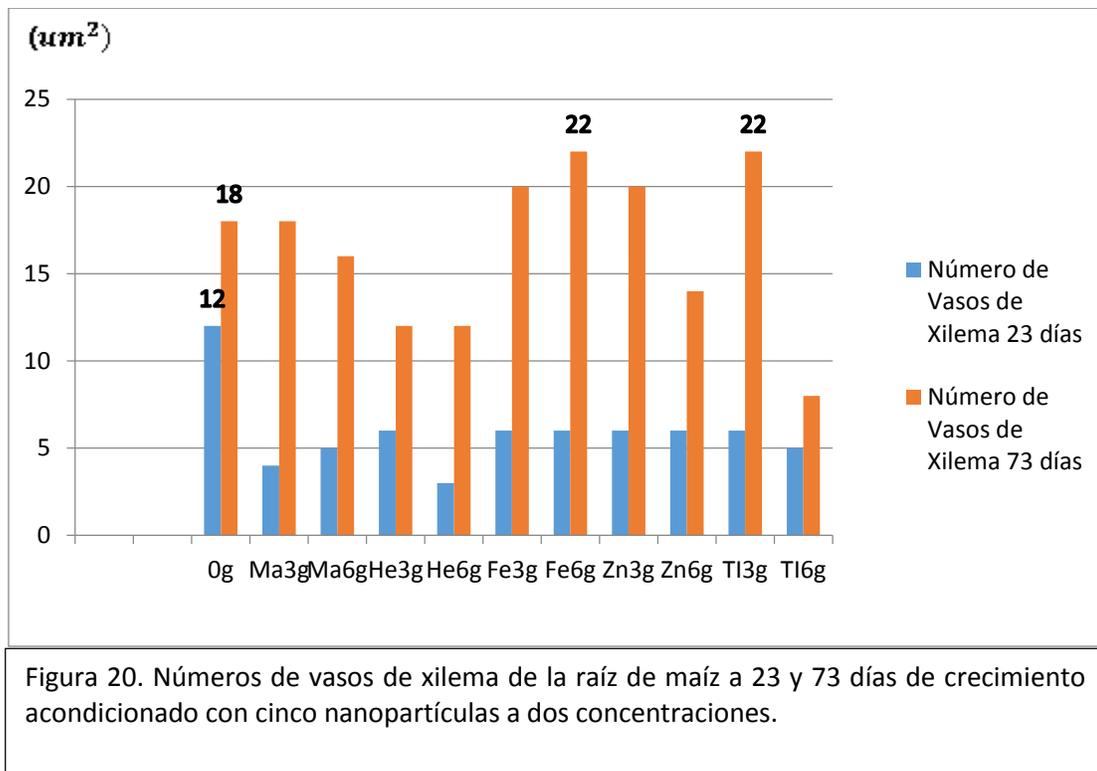


Figura 19. Área de vasos de xilema de la raíz de maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.

#### Número de vasos de xilema de la raíz de maíz

A 23 días el testigo de maíz presenta un número de vasos de 12 superando a todas las demás nanopartículas esto quiere decir que se retiene el crecimiento de los vasos con respecto a la edad de crecimiento. A 73 días la ferrihidrita a 6 g/l y dióxido de titanio a 3 g/l aumentaron su número de vasos en un 22.22% comparado con el testigo (figura 20). La toxicidad de los metales puede ser estudiada mediante una evaluación de sus efectos sobre el crecimiento de las plantas, entre las que se encuentran el maíz y el helecho *Azolla* (Vargas-Palomino *et al.*, 2007)



### Área de vasos del xilema del tallo del maíz

A 23 días al aplicar a la planta de maíz nanopartículas de ferrihidrita a concentración de 3 g/l aumenta el área del número de vasos en un 22.05% comparado con el testigo. A 73 días la nanopartícula de óxido de zinc a concentración de 3 g/l la planta produjo 68.56% mayor área comparado con el (figura 21) Las partículas alcanzan el cilindro vascular, se mueven utilizando la corriente de transpiración en el xilema y se distribuyen por la parte aérea de las plantas en menos de 24 horas (González-Melendi *et al.*, 2008).

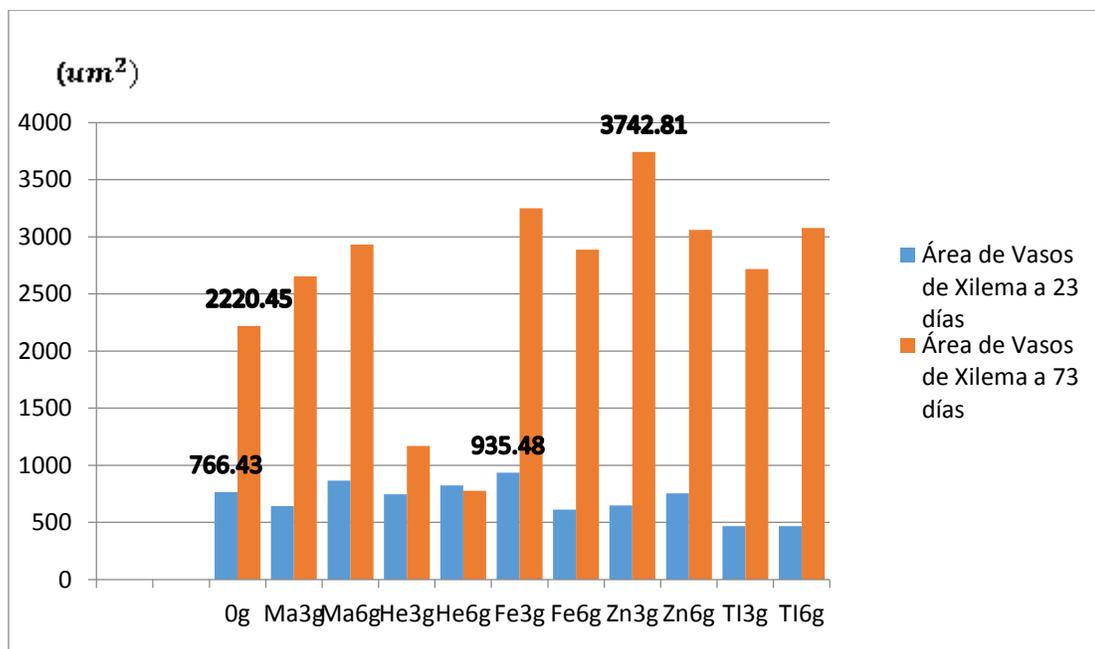


Figura 21. Área de vasos del xilema del tallo del maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.

### Número de vasos de xilema en el tallo del maíz

A 23 días la magnetita a 6 g/l y la hematita a 3 g/l superan al testigo en un 20% el número de vasos comparado con el testigo. A 73 días la nanopartícula de dióxido de titanio aumento el número de vasos de xilema en un 50% más comparado con el testigo (Figura 22). Maqueda (2003) menciona que los metales se transportan a la parte aérea vía el xilema ya sea como iones hidratados o principalmente como complejos con histidina o ácido cítrico, entre otros.

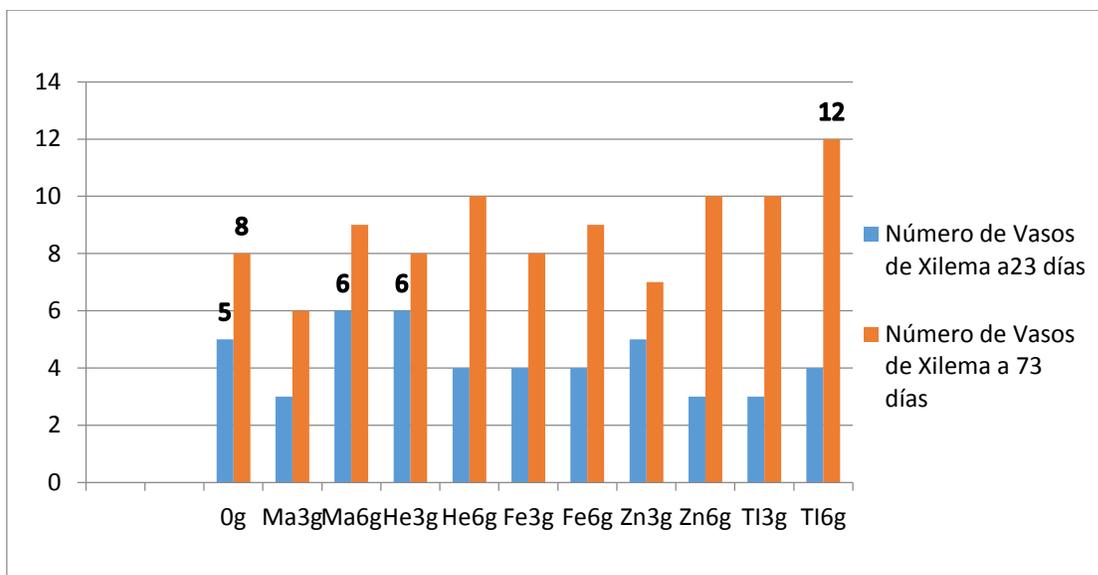


Figura 22. Área de vasos del xilema del tallo del maíz a 23 y 73 días de crecimiento acondicionado con cinco nanopartículas a dos concentraciones.

Cuadro 7. Cuadro comparativo de variables de micromorfología, en raíz en el cultivo de maíz a 23 y 73 días de crecimiento.

Clave	Raíz de maíz 23 días			Raíz de maíz 73 días		
	Área del haz vascular ( $\mu m^2$ )	Área de Vasos de Xilema ( $\mu m^2$ )	Número de Vasos de Xilema	Área del haz vascular ( $\mu m^2$ )	Área de Vasos de Xilema ( $\mu m^2$ )	Número de Vasos de Xilema
0g	85516.32	934.62	12	623994.41	2861.65	18
Ma3g	113885.93	4572.13	4	986078.07	6723.45	18
Ma6g	118988.74	3623.01	5	397886.75	7958.04	16
He3g	148650.56	4296.25	6	409583.99	5064.24	12
He6g	58744.41	3091.22	3	319557.69	6068.66	12
Fe3g	70584.65	2268.24	6	1119321.17	6919.46	20
Fe6g	114104.30	4240.71	6	890071.5	6420.38	22
Zn3g	74864.12	2370.24	6	623659.27	2419.67	20
Zn6g	83404.23	2832.56	6	357798.98	5370.19	14
TI3g	72255.59	1678.12	6	780845	3155.36	22
TI6g	103506.08	2677.97	5	151295.03	4380.83	8

0g: Testigo, Ma: Magnetita, He: Hematita, Fe: Ferrihidrita, Zn: Óxido de Zinc Ti: Dióxido de Titanio. 6g: 6 gr/l, 3g: 3 gr/L

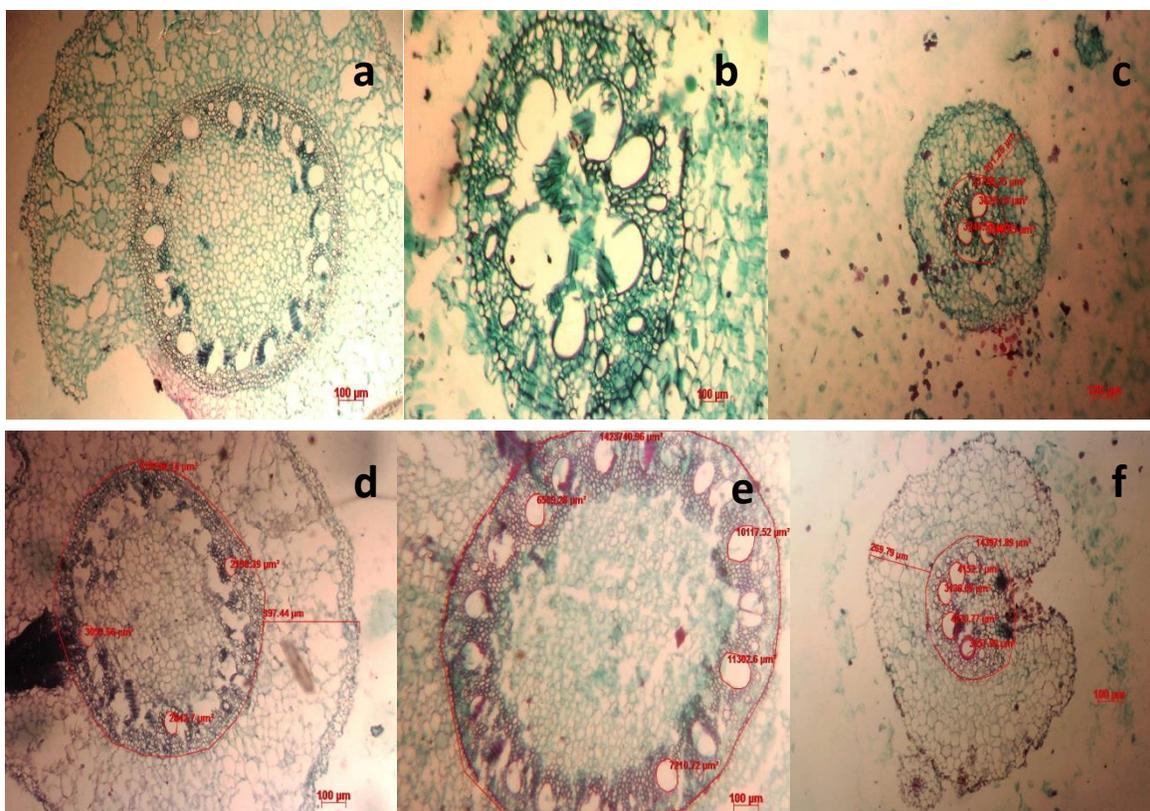


Figura 23. Microfotografías a 5 X de cortes transversales de raíz de maíz tratadas con nanoparticulas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de raíz a 23 días b) Hematita a 3 g/l, C) Hematita a 6 g/l , d) testigo de raíz a 73 días, e) Ferrihidrita a 3 g/l, f) dióxido de titanio a 6 g/l Escala 100  $\mu\text{m}$

Cuadro 8. Cuadro comparativo de variables de micromorfología, de tallo en el cultivo de maíz a 23 y 73 días de crecimiento.

Clave	Tallo de maíz 23 días		Tallo de maíz 73 días	
	Área de Vasos de Xilema ( $\mu\text{m}^2$ )	Número de Vasos de Xilema	Área de Vasos de Xilema ( $\mu\text{m}^2$ )	Número de Vasos de Xilema
Og	766.43	5	2220.45	8
Ma3g	643.74	3	2653.47	6
Ma6g	866.56	6	2931.75	9
He3g	745.64	6	1170.07	8
He6g	823.46	4	776.13	10
Fe3g	935.48	4	3250.83	8
Fe6g	611.34	4	2889	9
Zn3g	648.3	5	3742.81	7
Zn6g	755.42	3	3062.08	10
Ti3g	469.07	3	2718.76	10
Ti6g	468.21	4	3078.78	12

Og: Testigo, Ma: Magnetita, He: Hematita, Fe: Ferrihidrita, Zn: Óxido de Zinc Ti: Dióxido de Titanio. 6g: 6 gr/l, 3g: 3 gr/L

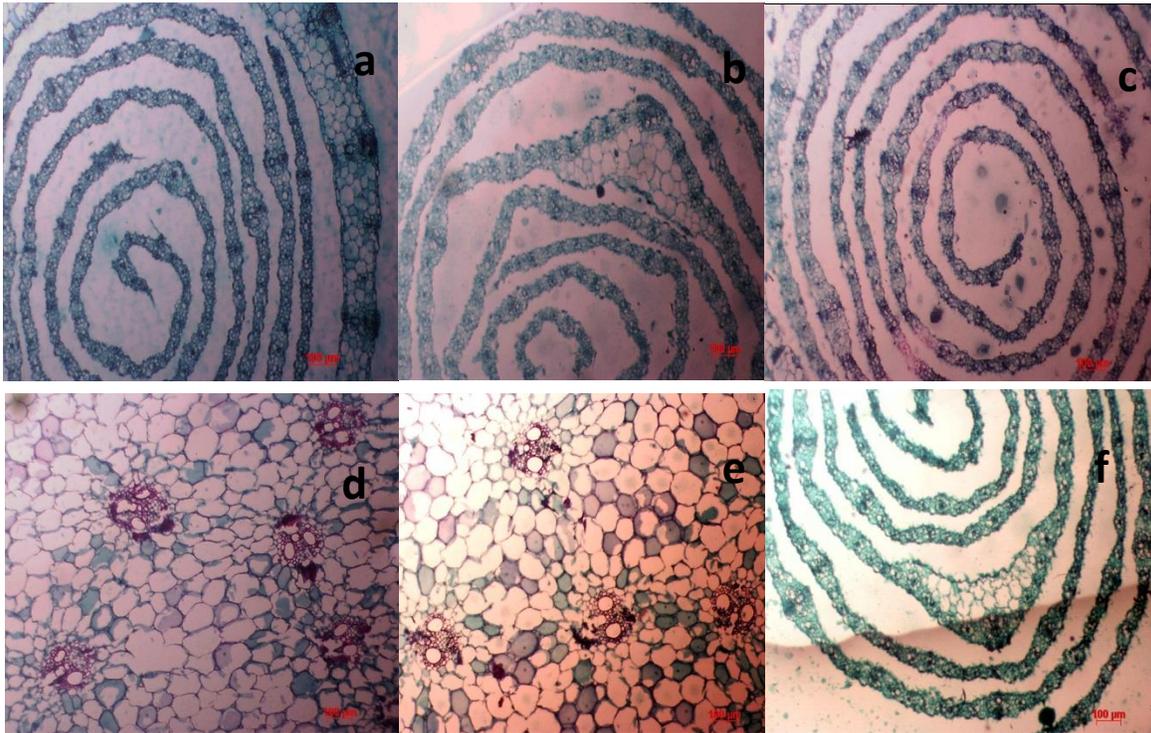


Figura 24. Microfotografías a 5 X de cortes transversales de tallo de maíz tratadas con nanopartículas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de tallo a 23 días, b) Ferrihidrita a 3 g/l, C) magnetita a 6 g/l , d) testigo de tallo a 73 días, e) óxido de zinc a 3 g/l, f) hematita a 6 g/l Escala 100  $\mu m$

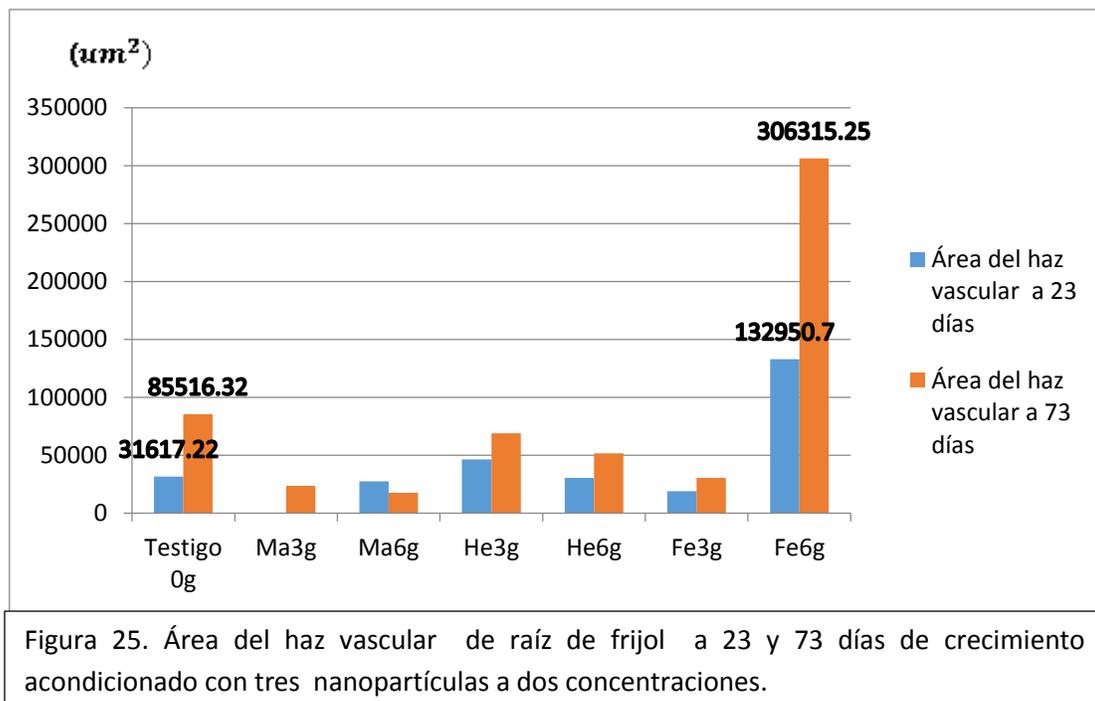
### Micromorfología en Frijol

Resultados obtenidos en frijol demuestran que las nanopartículas afectan el área del haz vascular, el área de vasos de xilema, y el ancho de la epidermis. Faiyue *et al.* (2010), mencionan que la formación de las raíces secundarias puede permitir el paso de nanopartículas y ser conducidas a la planta a través del xilema.

### Área del haz vascular de raíz de frijol.

El frijol a 23 días al aplicar nanopartículas de ferrihidrita a concentración de 6 g/l aumenta el área del haz vascular en un 320.50% más comparado con el testigo. A 73 días el frijol sigue aumentando su área del haz vascular con la nanopartícula de

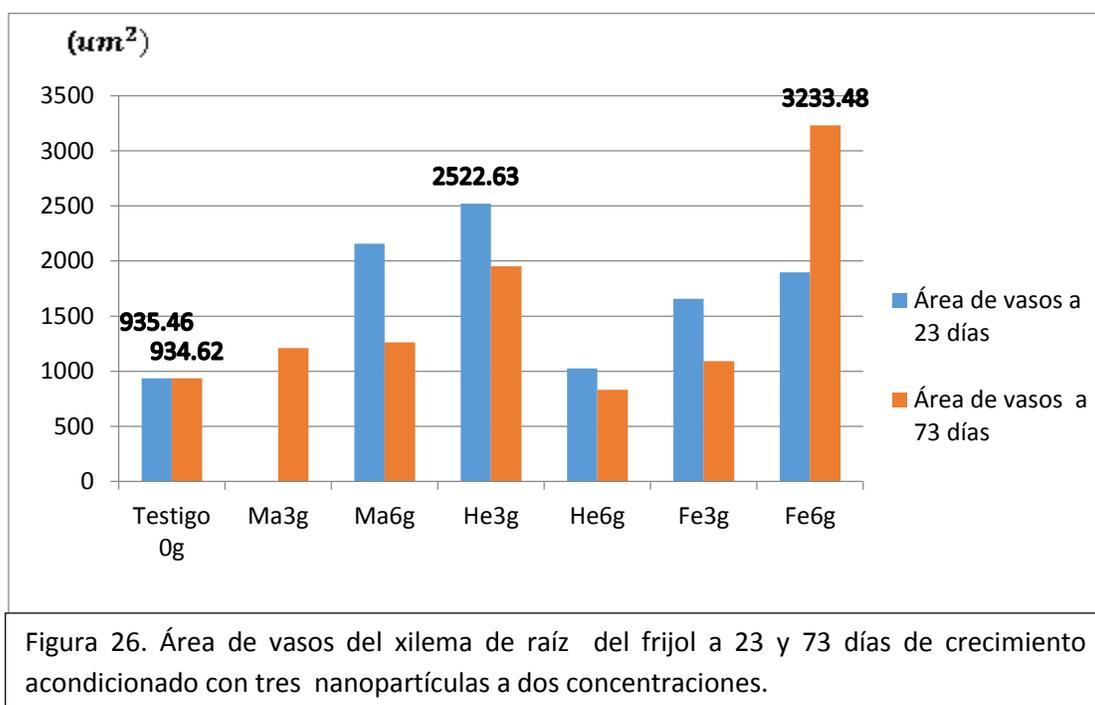
ferrihidrita a concentración de 6 g/l superando al testigo en un 258.19 % (figura 25). La exodermis evita el flujo apoplástico de solutos y agua al cilindro central. Sin embargo la formación de las raíces secundarias puede permitir el paso de las nanopartículas y ser conducidas a la planta a través del xilema. Resultados muestran que es posible crear y medir presiones negativas en el xilema de raíces cortadas con la ayuda de una sonda de presión de la raíz. Sin embargo, sólo las presiones de hasta - 0,3 MPa podría medirse debido a la cavitación que se produjo principalmente en la superficie de corte de la raíces (Heydt y Steudle, 1991).



### Área de vasos de xilema de raíz de frijol

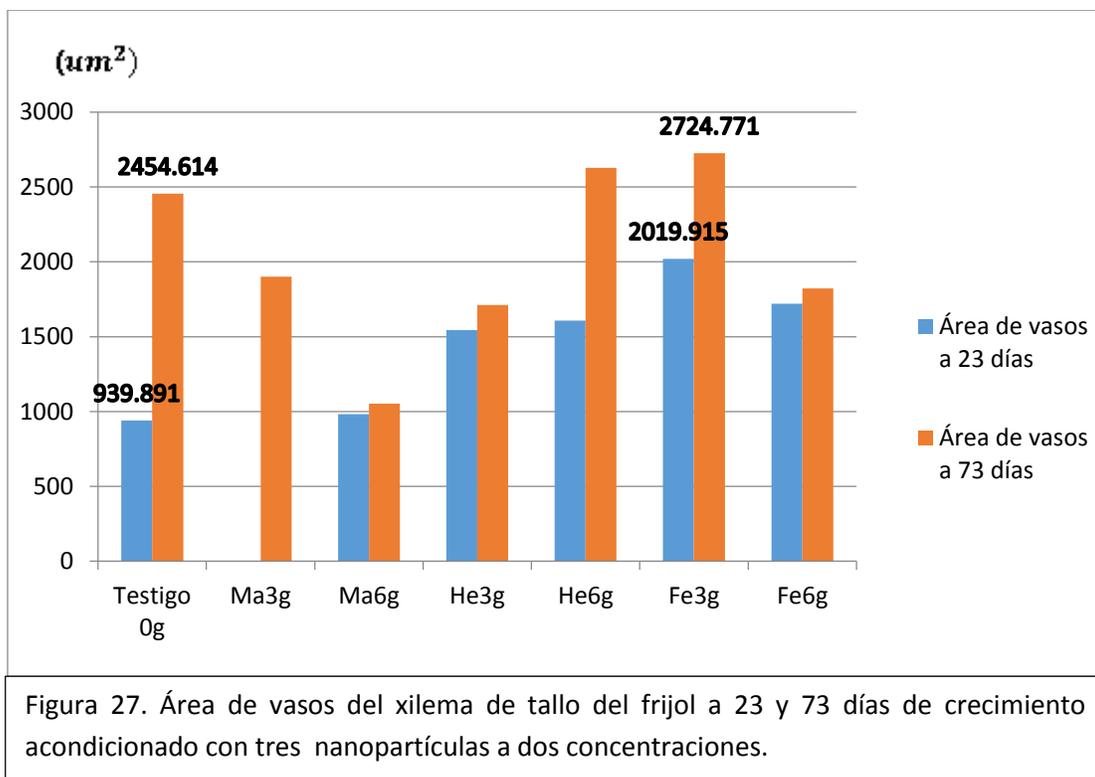
A 23 días las plantas de frijol aumentaron mayormente el área de vasos de xilema superando al testigo al aplicar hematita a 3 g/l en un 168.66% área de vasos de xilema. A 73 días la ferrihidrita a concentración de 6 g/l aumentó un 245.96% comparado con el testigo (Figura 26) En plántulas de tomate injertadas 'Fanny'/AR-

9704' y evaluadas ocho días después de realizar la injertación por el método de aproximación y con lengüeta, se observó que el xilema y floema en el punto de unión del injerto estaban totalmente fusionados y en plena actividad; además, hubo un incremento de la actividad enzimática del tipo peroxidasa y catalasa, implicadas éstas en la unión del injerto (Fernández-García *et al.*, 2004).



#### Área de vasos de xilema del tallo del frijol

A 23 días las nanopartículas de ferrihidrita a 3 g/l estimularon a que la planta tenga un incremento del área en un 114.90% comparado con el testigo. A 73 días la planta al aplicar nanopartículas de ferrihidrita a 3 g/l la planta supera al testigo en un 11.06 % (Figura 27). Las nanopartículas estaban presentes en la savia del xilema como examinadas por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y espectroscopia de energía dispersiva (EDS), mostrando que CuO PN fueron transportados desde la raíz hasta a través del xilema (Wang *et al.*, 2012).



Cuadro 9. Cuadro comparativo de variables de micromorfología, de raíz en el cultivo de frijol a 23 y 73 días de crecimiento.

Clave	Raíz de frijol 23 días		Raíz de frijol 73 días	
	Área del has vascular (um²)	Área de vasos de xilema (um²)	Área del has vascular (um²)	Área de vasos de xilema (um²)
Testigo 0g	31617.22	935.46	85516.32	934.62
Ma3g	0	0	23680.04	1209.71
Ma6g	27451.75	2156.85	17569.85	1260.78
He3g	46342.94	2522.63	68935.73	1952
He6g	30526.57	1023.73	51700.02	832.19
Fe3g	18987.67	1658.28	30585.62	1092.48
Fe6g	132950.7	1896.45	306315.25	3233.48

0g: Testigo, Ma: Magnetita, He: Hematita, Fe: Ferrihidrita. 6g: 6 gr/l, 3g: 3 gr/L

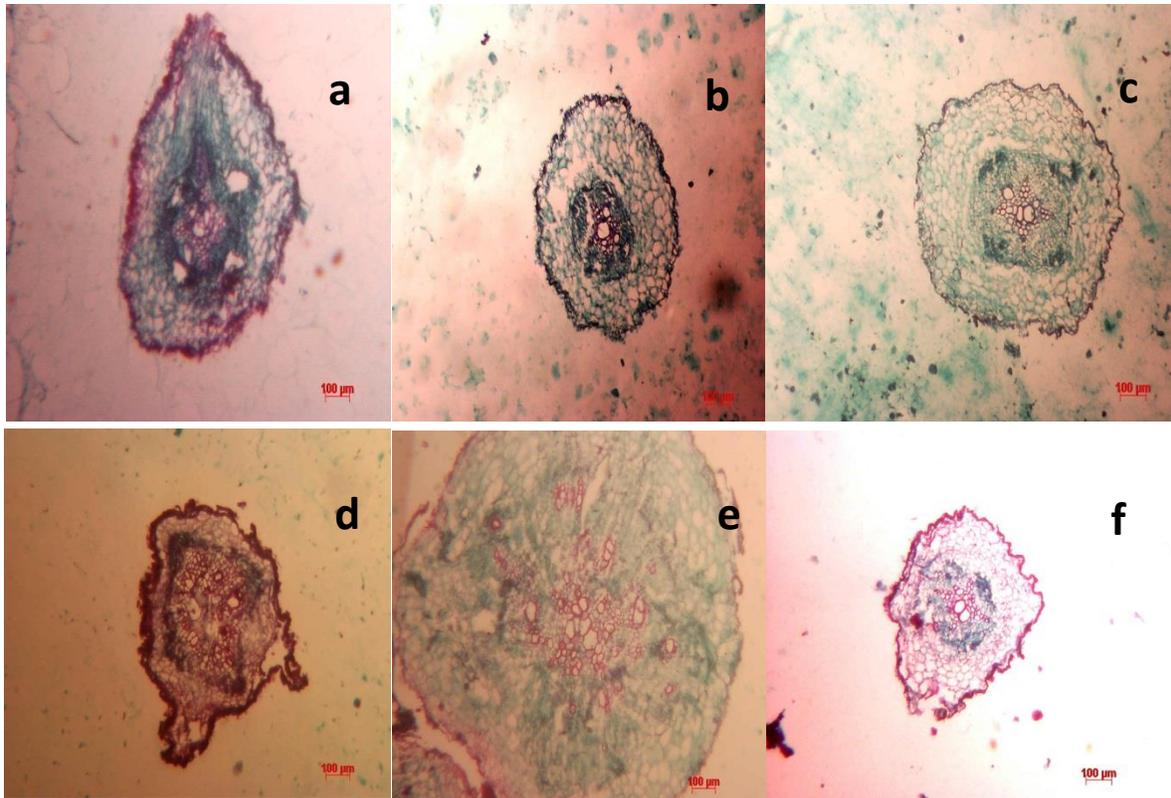


Figura 28. Microfotografías a 5 X de cortes transversales de raíz de frijol tratadas con nanopartículas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de raíz a 23 días b) Ferrihidrita a 6 g/l, C) Ferrihidrita a 3 g/l, d) testigo de raíz a 73 días, e) ferrihidrita a 6 g/l, f) Magnetita a 6 g/l Escala 100  $\mu m$

Cuadro 10. Cuadro comparativo de variables de micromorfología, de tallo en el cultivo de frijol a 23 y 73 días de crecimiento.

Clave	Tallo a 23 días	Tallo a 73 días
	Área de vasos de xilema ( $\mu m^2$ )	Área de vasos de xilema ( $\mu m^2$ )
Testigo 0g	939.891	2454.614
Ma3g	0.0	1901.462
Ma6g	982.576	1053.747
He3g	1542.9	1710.552
He6g	1607.002	2628.123
Fe3g	2019.915	2724.771
Fe6g	1720.824	1822.65

0g: Testigo, Ma: Magnetita, He: Hematita, Fe: Ferrihidrita. 6g: 6 gr/l, 3g: 3 gr/L

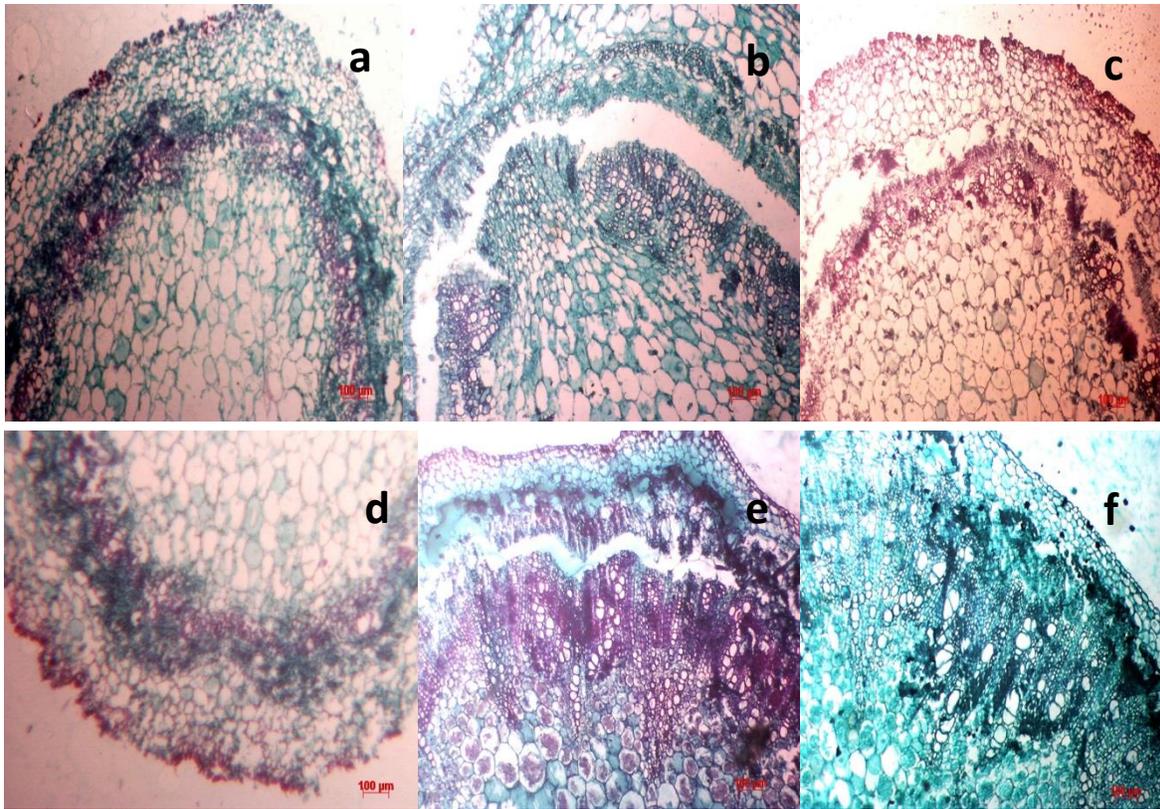


Figura 29. Microfotografías a 5 X de cortes transversales de tallo de frijol tratadas con nanopartículas a 23 días y 73 días de crecimiento donde se muestra .a) testigo de tallo a 23 días b) Ferrihidrita a 3 g/l, C) Magnetita a 6 g/l, d) testigo de tallo a 73 días, e) ferrihidrita a 3 g/l, f) Magnetita a 6 g/l Escala 100  $\mu m$

## CONCLUSIONES

1.-Los resultados en biomasa demuestran que la aplicación de nanopartículas de ferrihidrita, hematitan, óxido de zinc y dióxido de titanio a concentraciones bajas influyen en el crecimiento y desarrollo de la planta de maíz en cuanto a peso y longitud de raíz y parte aérea a 23 y 73 días de crecimiento, en frijol las nanopartículas de hematita a concentraciones altas aumentan el peso de la planta y la ferrihidrita a concentración baja disminuye el sistema radicular pero induce a que se aumente la parte aérea de la planta.

2.-En la micromorfología se concluye que nanopartículas de Magnetita, Hematita y Ferrihidrita a diferentes concentraciones la planta presenta varios cambios en cuanto al área del haz vascular, área de vasos de xilema y el número de vasos los cuales se van modificando de acuerdo al estado fenológico de la planta.

3.- Las modificaciones de biomasa y micromorfología de las plantas de maíz y frijol al aplicar nanopartículas, su efecto dependerá del tipo de nanopartícula y la concentración que se le suministre a la planta.

## LITERATURA CITADA

- Adriano, D. C. 2001. Los oligoelementos en ambientes terrestres: biogeoquímica , biodisponibilidad y los riesgos de los metales. Springer- Verlag. New York. Estados Unidos de America. 867 pp
- Ávalos, A., Haza, A., Mateo, D., Morales, P. 2013. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 7(2):1-23
- Benavides-Mendoza, A. 2009. Temas Modernos de Nutrición Vegetal. Ed.Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Texcoco, México.200 pp
- Berrones, M., L. Lascano. 2009. Síntesis de nanopartículas de hematita por el método de precipitación controlada. *Revista politécnica*. 30 (1): 91-99.
- Birbaum, K., R. Brogioli., M. Schellenberg., E. Martinola., W. Stark., D. Günther, L. Limbach. 2010. No hay evidencia para el dióxido de cerio NP translocación en plantas de maíz. *Ciencia y Tecnología del Medio Ambiente*. 44 (22): 8718–8723.
- Brooks, R. R. 1998.Las plantas que hiperacumular Metales Pesados . Su papel en la fitorremediación , Microbiología, Arqueología , Exploración Minera y fitominería . CAB International, New York, NY. Estados Unidos de America. 285 pp
- Cabada.,J.C., Rees, S., Takahama, A., Khlystov, S.N., Pandis, C.I., Davidson, A.L., Robinson. 2004Distribución del tamaño de la misa y tamaño giraban composición química de las partículas finas en el supersitio Pittsburgh. *Atmos. Environ*. 38, 3127–3141

- Cañas, J. E., Long, M., Nations, S., Vadan, R., Dai, L., Luo, M., Ambikapathi, R., Lee, H., Olszyk, D. 2008. Efectos de los nanotubos de carbono de pared simple funcionalizados y no funcionalizados en el alargamiento de la raíz de las especies de cultivos seleccionados. *Ciencia y Tecnología del Medio Ambiente*. 27 (9): 1922–1931.
- Celis-Velazquez, R., C. B. Peña-Valdivia, M. Luna-Cavazos, and J. R. Aguirre R. 2010. Semilla de caracterización morfológica y las reservas utilizadas durante las plántulas de emergencia del salvaje y domesticated frijol común ( *Phaseolus vulgaris* L. ) .*Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 27:61-87.
- Chang, Y., M. Zhang., L. Xia., J. Zhang., G. Xing, G. 2012. Los efectos tóxicos y Mecanismos de CuO y ZnO nanopartículas .*Materiales* (5), 2850-2871.
- Corrales,F.J. 2014.Nanopartículas de cobre y de óxido de zinc como antifúngicos contra *Botrytis cinerea* in vitro e in vivo en frutos de tomate durante poscosecha. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 50 pp
- Delgado G. C. 2007. Incertidumbre de la nanotecnología: Riesgos ambientales y salud. *Revista Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*. 6: 47-61.
- Doshi, R., W. Braid., C. Christodoulatos., M. Wazne., G. O'Connor. 2008. Nano-aluminio: transporte a través de las columnas de arena y los efectos ambientales sobre las plantas y las comunidades del suelo. *Investigación Ambiental*. 106 (3): 296–303.

- Erro-Urrutia, J. 2011. La seguridad y la salud en la exposición a nanopartículas “por un desarrollo seguro de las nanopartículas”. Instituto Riojano de Salud Laboral Logroño. Pag. 50
- Faiyue, B., M. Al-Azzawi., J. Timothy. 2010. El papel de las raíces laterales en el flujo de derivación del arroz (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Environ.* 33 (5): 702–716.
- Fernández -López, M. B. 2009. Ferritinas Naturales y Sintéticas. Implicaciones Nanobiomédicas. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, Departamento de Química Inorgánica. Granada España. pp 4-5.
- Fernández-García, N.; Carvajal, M.; Olmos, E. 2004. Formación injerto sindicato en Plantas de tomate: peroxidasa y catalasa involucradas. *Annals of Botany* 93: 53-60.
- Fernández-Luqueño, F., López-Valdez, F., Valerio-Rodríguez, M.F., Pariona, N., Hernández-López, J.L., García-Ortiz, I., López-Baltazar, J., Vega-Sánchez, M.C., Espinosa-Zapata, R. & Acosta-Gallegos, J.A. (2014). Efectos de nanofertilizantes sobre el crecimiento de la planta y el desarrollo, y su interrelación con el medio ambiente . En : López- Valdez, F. & Fernández- Luqueño , F. ( Eds . ) . Fertilizantes : componentes , usos en la agricultura y el impacto ambiental .NOVA Science. New York, USA. 211-224 pp
- Foladori, G., N. Invernizzi. 2005. Nanotecnología: ¿Beneficios para todos o mayor desigualdad? *Revista Redes* 11(21): 55-75.

- Frejo, M.T., M. Díaz., M. Lobo., J. García., M. Capó. 2011. Nanotoxicología ambiental: retos actuales. *Medicina Balear.* 26 (2): 36-46.
- González-Melendi, P., Fernández-Pacheco, R., Coronado, M. J., Corredor, E., Testillano, P. S., Risueño, M. C., Marquina, C., Ibarra, M. R., Rubiales, D., Pérez-de-Luque, A. 2008. Absorción y translocación a la parte aérea de nanopartículas magnéticas a través de la raíz de diferentes cultivos. *Annals of Botany.* 101-187.
- Guerrero, V., P. Calvopiña., C. Valdivieso. 2011. Síntesis catalítica de nanopartículas de hematita y su aplicación en la remoción de cromo (VI) *Revista Politécnica* (32) 65-69.
- Gutierrez-Praena, D., Jos, A., Pichardo, S., Puerto, M., Sánchez-Granados, E., Grilo, A. 2009. Nuevos riesgos tóxicos por exposición a nanopartículas, *Revista de Toxicología.* 26 (2-3): 87-92.
- Gutiérrez-Wing, C. 2001. Las Nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial. *App. Phys, A.* 70, 237- 243.
- Hernández, J.M., L. A. García-Serrano., B. H. Zeifert-Soares., R. García-Alamilla., B. Zermeño-Resendiz., T. Del Angel-Sánchez y A. Cueto-Hernández. 2008, Síntesis y caracterización de nanopartículas de N-TiO<sub>2</sub>- Anatasa. *Superficies y vacío* 21(4): 40-49.
- Heydt, H., E. Steudle. 1991. Medición de la presión negativa en el xilema de las raíces extirpados. *Planta* 184:389-396

- Huan, M., Z. Chen., G. Xing., H. Yuan., C. Chen., F. Zhao., C. Zhang., Y. Zhao. 2007. Reactividad ultra alta provoca nanotoxicidad : Explicación de la toxicidad oral de nano-partículas de cobre. *Toxicology letters* 175: 102-110.
- Karl-Josef, D. and S. Herth. 2011. Nanotoxicología Planta *Trends in Plant Science*. 16 (11): 582-589.
- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., Biris, A.S. 2009. Los nanotubos de carbono son capaces de penetrar la capa semilla de la planta y afectar drásticamente la germinación de semillas y crecimiento de las plantas. *ACS Nano*; 3 (10): 3221-7
- Lee, W., An, Y., Yoon, H., Kweon, H. 2008. La toxicidad y biodisponibilidad de nanopartículas de cobre a la plantas terrestres frijol mungo ( *Phaseolus radiatus* ) y el trigo ( *Triticum awstivum* ) : absorción de la planta de nanopartículas insolubles en agua . *Toxicología Ambiental y Química*. 27(9): 1915–21.
- Lépiz, I. R. López, J. J. Sánchez, J. J. Santacruz, R. F. Nuño, R. R. y Rodríguez G. E. 2010. Características morfológicas de formas cultivadas, silvestres e intermedias de frijol común de hábito trepador. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 33 (1): 21-28.
- Lin, D. and Xing, B. 2008. Raíz de captación y fitotoxicidad de nanopartículas de ZnO . *Ciencia y Tecnología del Medio Ambiente*. 42 (15): 5580-5585.
- Loomis, R.S., D.J. Connor. 1992. *Ecología de cultivos: Productividad y Gestión de Sistemas Agrícolas*. Cambridge University Pres, UK. 538 pp.

- Lugo-Medina, E., C. Garcia-Gutierrez., R, Ruelas-Ayala. 2010. Nanotecnología y nano encapsulación de plaguicidas. Revista Ra Ximhai. 6(1): 63-67.
- Mae-Wan, H. 2012. Las nanopartículas se bioacumulan y cultivos de soja Harm. Instituto de Ciencia en Sociedad, ISIS.(1): 1-6
- Maqueda, A. P. 2003. Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Tesis de Opción a Maestría en Biotecnología. Departamento de Química y Biología, Universidad de las Américas, Cholula, Puebla. México. 80 pp
- Martinello, B., L, Rodriguez., A.M, Bernardin. 2012. Síntesis de nanopartículas de ZnO por el proceso sol-gel. Cualicos 12 (1): 1-9
- Masarovičová, E., K. Kráľová. 2013. Metal nanopartículas y plantas. ECOL CHEM ENG ;20(1):9-22
- Picasso, G., J. Vega., R. Uzuriaga., G, Ruiz. 2012. Preparación de nanopartículas de magnetita por los métodos sol-gel y precipitación: estudio de la composición química y estructura. Revista de la Sociedad Química del Perú. 78 (3): 170-182.
- Pokhrel, L., B. Dubey. 2013. Evaluación de las respuestas de desarrollo de dos plantas de cultivo expuestas a nanopartículas de óxido de plata y zinc. Science of the Total Environment 321–332
- Ramos J. C, M.G Perreta, J.C Tivano y A.C Vegetti. 2004. Variaciones anatómicas en la raíz de *Pappophorum philippianum* inducidas por salinidad. Revista internacional de botánica experimental. 103-109

- Rico, C. M., S. Majumdar., M. Duarte-Gardea., J. Peralta-Videa., J.L. Gardea-Torresdey. 2011. La interacción de las nanopartículas con plantas comestibles y sus posibles consecuencias en la cadena alimentaria. *J. Agric. Food Chem.*, 59 (8):3485-3498
- Schreiber, L. 2011. Transporte barreras hechas de cutina, suberina y ceras asociados. *Tendencias de la Ciencia de Plantas*. 15 (10): 546–553.
- Schutzendubel, A. and A. Polle. (2002) Respuestas de las plantas a estreses abióticos: fuerte estrés oxidativo inducido por metal y protección por la micorrización. *Exp. Bot.* 53, 1351–1365
- Seeger, E. M., Baun, A. Kanstner, M. Trapp, S. 2009 Insignificante toxicidad aguda de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> a los árboles de sauce. *Journal of Soils Sediments*. 9 (1): 46–53.
- SIAP-SAGARPA, 2013, Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Información general y estadística para los 50 cultivos más importantes. [www.siap.sagarpa.gob.mx](http://www.siap.sagarpa.gob.mx) (19 de septiembre de 2013).
- Sory Toure, A.; Nieto-Ángel, R.; Rodríguez-Pérez, J. E.; Barrientos-Priego, A. F.; Ibáñez-Castillo, L. A.; Romanchik K., E.; Núñez-Colín, C. A. 2010. Variación anatómica del xilema en tallo de cultivares de tomate injertados en un tipo criollo. *Revista Chapingo serie horticultura*, vol. 16: 67-76.

- Stampoulis. D., S.K. Sinha., J.C. White. 2009. Ensayo dependiente fitotoxicidad de las nanopartículas a las plantas. *Environ Sci Technol* 43:9473–9479
- Torres-Sandoval, C. y García-Salazar J. A. 2008, Aplicación de un modelo de equilibrio espacial para determinar la estructura del mercado del frijol en México. *Agrociencia*. 42 (6): 731-740.
- Vargas, M., Y.H. Ochoa., Y. Ortegón., P. Mosquera., J.E. Rodríguez., J. Camargo. 2011. Nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, fase anatasa, sintetizadas por métodos químicos, ingeniería y desarrollo. *Universidad del Norte*, 29(2): 186-201.
- Vargas-Palomino,L., M. Martínez-Trujillo., R. Ortiz-Castro., J. López-Bucio. 2007 Efecto de metales pesados sobre el crecimiento de la raíz primaria de *Arabidopsis thaliana* L. *Ciencia Nicolaita* 49: 101-112
- Wang, Z., X. Xie., J. Zhao., X. Liu., W. Feng., J.C. White and B. Xing. 2012. Xylema y floema basada Transporte de CuO nanopartículas en maíz (*Zea mays* L.). *Environ. Sci. Technol* 46:.4434–4441
- Xingmao, M., J. Geiser-Lee., Y. Deng., A. Kolmakov. 2010 Las interacciones entre las nanopartículas artificiales (ENPS) y plantas: fitotoxicidad, la absorción y la acumulación. *Science of the Total Environment*. 408 (16): 3053–3061.
- Zalts A. 2011. Metales, ambiente y las sociedades tecnológicas: ¿Hacia dónde nos dirigimos? *Revista Química viva*. 10(2):30-42