

## PRODUCCIÓN Y REGULACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO SON UN FACTOR CLAVE PARA EL USO DE NANOPARTÍCULAS EN LA AGRICULTURA

---

*Hernández-Rodríguez, Mónica*

Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Departamento de Biociencias y Agrotecnología. Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25294.

*Cardiel-Alanís, Angélica*

Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Departamento de Biociencias y Agrotecnología. Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25294.

*Lira-Saldivar, Ricardo Hugo*

Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Departamento de Biociencias y Agrotecnología. Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25294.

All content in this magazine is licensed under a Creative Commons Attribution License. Attribution-Non-Commercial-Non-Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).



**Resumen:** Los nanomateriales (NMS) pueden provocar alteraciones en la fisiología y bioquímica de las plantas al interferir en su metabolismo celular mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés). Generalmente todos los factores bióticos y abióticos provocan estrés oxidativo en las plantas, pudiendo dañar los componentes de las células e inactivar sus funciones. Las plantas continuamente producen ROS en sus diferentes organelos celulares, pero están siendo continuamente removidas por un complejo sistema antioxidante en el que participan enzimas, proteínas y metabolitos que permiten mantener la homeostasis celular. La producción de ROS se ha establecido como uno de los primeros eventos de señalización bioquímica implicada en la respuesta de la planta a condiciones de estrés. Por lo que, la investigación sobre la interacción de las nanopartículas (NPs) en la modulación del sistema de defensa antioxidante de las plantas, nos puede ayudar a entender como las NPs participan e interactúan en aspectos fisiológicos y bioquímicos relacionados con la fitotoxicidad, genotoxicidad, crecimiento y desarrollo vegetal. Esta revisión bibliográfica de publicaciones selectas y actualizadas sobre nanotecnología (NT), tiene como objetivo poner en perspectiva las señales involucradas en la producción de estrés oxidativo en plantas cultivadas, debido a la aplicación de NPs y de diversos NMS metálicos y derivados del carbono.

**Palabras clave:** Nanotecnología, metabolitos secundarios, estrés oxidativo, señalización.

## INTRODUCCIÓN

En el nuevo milenio la nanotecnología se ha posicionado como una ciencia que aporta nuevos materiales a escala nanométrica (1-100 nm). Sus comienzos inician con la primera publicación en el 2003 por el Departamento de

Agricultura de los Estados Unidos, en el cual se revelaba la primera ruta de síntesis el 9 de septiembre del 2003, incursionándose de esta forma en la industria agrícola y alimentaria (He et al., 2019).

La investigación desarrollada sobre este tema se debe a que la NT cuenta con diferentes propiedades fisicoquímicas, los cuales tienen una gran cantidad de aplicaciones en electrónica (Pandey, 2022), fotónica, cosméticos, energéticos (Mehmood et al., 2022), medicina, biotecnología (Kazemi et al., 2022), así como en la agricultura tradicional y sustentable (Arora et al., 2022). En la agricultura del siglo XXI la NT permite sintetizar NPs por métodos químicos, físicos y biológicos que se pueden emplearse como nanofertilizantes (Beig et al., 2022), nanoplaguicidas (Rodríguez-Torres, 2023), nanosensores (Tiwari et al., 2023) y promotores de crecimiento de las plantas (Gulzar y Mazumder, 2022).

El reporte de Marslin *et al.* (2017) señala que las NPs suministradas a las plantas alteran su metabolismo secundario provocando diferentes respuestas bioquímicas, incluyendo la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas entre otras cosas por efectos de estrés biótico y abiótico (Abdelsalam et al., 2023) que dependiendo de su concentración y permanencia dentro del complejo celular, pueden derivar en una estimulación del crecimiento vegetal, o interferir en su metabolismo, provocando alteraciones graves que pueden ocasionar síntomas de fitotoxicidad, genotoxicidad (Das et al., 2018) y respuestas toxicogenómicas (Tang et al., 2016).

Generalmente todos los factores bióticos y abióticos adversos pueden desencadenar estrés oxidativo en las plantas, lo que puede llegar a dañar los componentes de las células e inactivar sus funciones. Tanto las ROS, como los radicales libres causan estrés oxidativo a

través de la oxidación de compuestos celulares (Mishra et al., 2022).

El estrés oxidativo desencadena reacciones de señalización y de defensa (Khan et al., 2016), que pueden inducir a la resistencia sistémica adquirida (RSA), donde el ácido salicílico (SA) opera como una hormona clave en la inmunidad innata, la resistencia de tejidos sistémicos y locales ante daños bióticos e inclusive la muerte celular y respuesta hipersensible de las plantas (Ding y Ding, 2020); o bien, detonar cascadas metabólicas que culminen en patrones valiosos agronómicamente, o promover condiciones de adaptación fisiológica por parte de los cultivos afectados por factores de estrés biótico (Thakur, 2013).

En la agricultura se ha comenzado a investigar la aplicación de NPs metálicas para atenuar el efecto de la acumulación de cromo en plantas (Ulhasan, et al., 2022), para usarse como fertilizantes (Ndaba et al., 2022) y como pesticidas (Malandrakis et al., 2022). De manera similar NPs derivadas del carbono han sido usadas en plantas de maíz (Xin et al., 2022), así como en plantas de arroz (Liang et al., 2018).

Se ha señalado que con la NT se podrá entender el comportamiento fisiológico y bioquímico de las plantas en respuesta a los factores bióticos y abióticos (Dasgupta y Ranjan, 2018), lo que podría permitir formular NMS que puedan suministrarse en cantidades óptimas, sin provocar fitotoxicidad y alteración deletérea en el sistema de defensa de las plantas, los cuales serían muy útiles en la agricultura. Por otro lado, también se sabe que los NMs son capaces de aportar beneficios en varias actividades beneficiosas para el suelo, como lo son el ciclo del N, una mejor actividad enzimática e inclusive el reclutamiento de microbiota benéfica presente en el suelo (Kalwani et al., 2022)

La aplicación de NPs<sub>CuO</sub> fueron capaces

de incorporar bacterias promotoras de crecimiento (PGPR) como *Sphingomonas* y *Flavisolibacter* en plantas de *Salvia miltiorrhiza* (Melissa et al., 2021; Wei et al., 2021). Otro estudio de Shah et al. (2014) reveló que las NPs migran a través del suelo y con esto se ven afectadas las comunidades microbianas presentes. La disminución de determinadas bacterias como *Sphingomonas* y *Lysobacter* y el aumento de otras como *Flavobacterium* y *Niastella* nos indica que la diferencia en el movimiento y migración de las NPs en los perfiles el suelo, pueden tener un impacto en la comunidad de bacterias donde los parámetros ambientales son cruciales para su supervivencia. Con base a lo anterior, esta revisión tiene como objetivo presentar información actualizada y relevante sobre el uso y efectos observados debido al empleo de NPs metálicas y derivadas del carbono en cultivos agrícolas, así como su efecto en el comportamiento fisiológico y bioquímico.

### **APLICACIÓN, ABSORCIÓN Y TRANSLOCACIÓN DE NPS EN LAS PLANTAS**

Cuando las NPs son aplicadas al follaje se absorben a través de los estomas y su translocación o transporte basipétalo es por el floema (Lira-Saldivar et al., 2022), pero poco se sabe acerca de si las NPs al ser internalizadas y los productos transformados se acumularán en los tejidos comestibles de las plantas, lo que puede aumentar la posibilidad de que NPs metálicas como las de plata ingresen a las cadenas alimentarias (Huang et al., 2022). Las brechas de conocimiento sobre los mecanismos detallados de transformación y translocación de NPs de plata (Ag) en la planta aún limitan nuestra comprensión del destino de Ag en los agrosistemas suelo-planta. La absorción, movimiento, translocación y fitotoxicidad que ocurre por efecto de las

nanopartículas se presenta en la Figura 1.

Las NPs al ser aplicadas al suelo o en el agua de riego penetran a través de la epidermis de la raíz y la corteza, posteriormente pasan a la endodermis y finalmente entran al tejido conductivo del xilema para ser translocados a larga distancia hasta las ramas y el follaje de las plantas (Singh et al., 2018). Las paredes y membranas celulares actúan como una eficaz barrera a la entrada de cualquier tipo de NPs, la efectividad de su entrada y posterior transporte, está determinado por el tamaño de los poros de la pared celular, los cuales están en el rango de 5 a 20 nm (Eichert et al., 2008).

Por lo tanto, sólo NPs de un tamaño menor al de los poros de la pared celular pueden pasar con facilidad y penetrar al citoplasma celular. Sin embargo, los NMs son considerados un factor de estrés en las plantas, ya que existe la posibilidad de que puedan remodelar y modificar la estructura y constitución de las membranas, así como de la pared celular (Palocci et al., 2017). Sin embargo, también pueden interactuar con las membranas celulares alterando canales de calcio o interactuando con enzimas como la NAPH oxidasa y modificar la fisiología de las plantas (Sosan et al., 2016).

Diversas investigaciones han demostrado que tanto las NPs derivadas del carbono, como las metálicas, son capaces de producir estrés en las plantas, generando un exceso de ROS, que pueden afectar el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y el ADN (Sturikova et al., 2018). Las NPs alteran la eficiencia fotosintética, la fluorescencia fotoquímica y el rendimiento cuántico en las plantas, debido a las interacciones de estas con los fotosistemas I y II, en donde las clorofilas transfieren la energía a las NPs (Rafique et al., 2018; Rico et al., 2015).

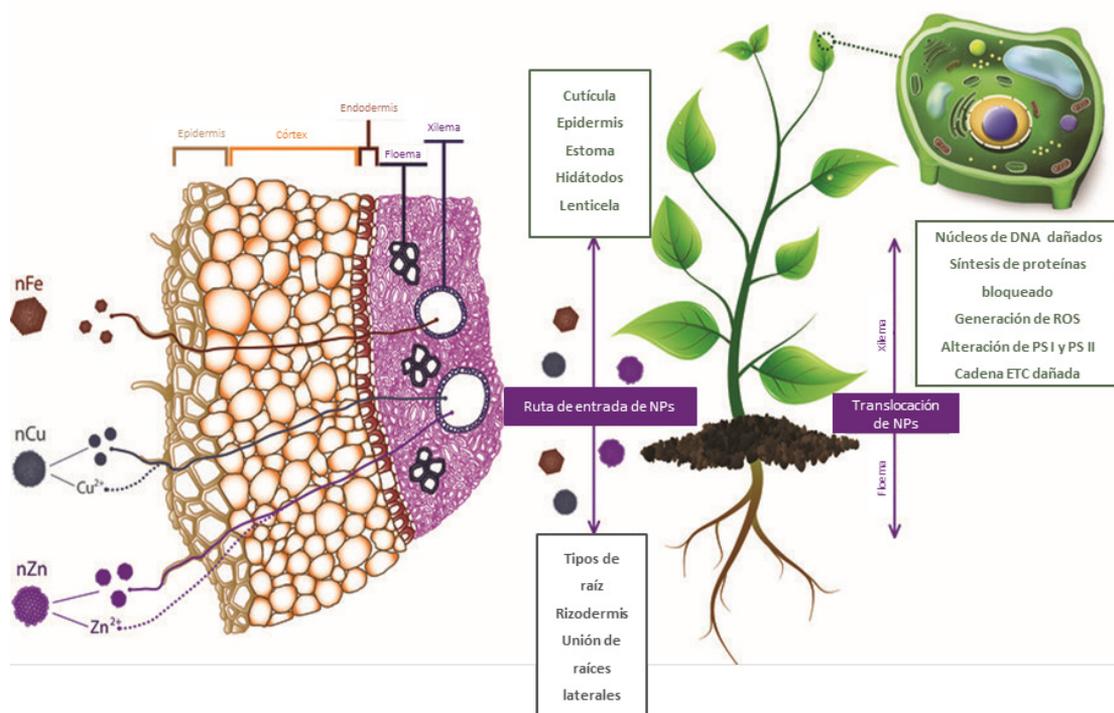
A su vez, la perturbación en la actividad fotosintética es traducido como estrés oxidativo en plantas, este tipo de estrés provocado por

NPs se ha investigado mediante técnicas que miden la producción de ROS (Khan et al., 2022) como peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), la activación de los mecanismos de defensa enzimáticos, la peroxidación lipídica y la pérdida de electrolitos, entre los efectos más importantes que ocurren en las plantas. Sin embargo, aún no se entiende completamente cómo las propiedades químicas de las NPs inducen la producción de ERO y el daño de membranas (Yang et al., 2017).

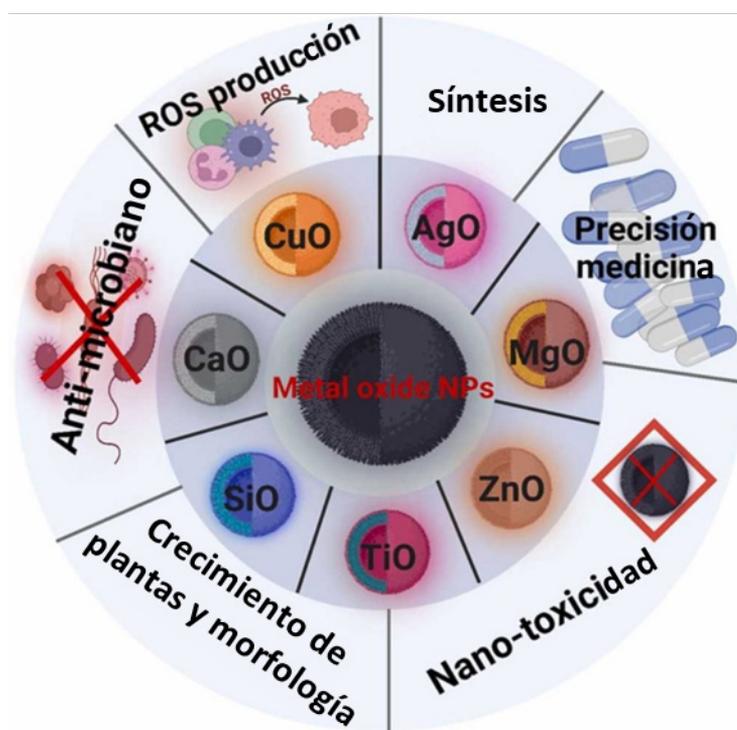
## **IMPORTANCIA DE ROS EN LA SEÑALIZACIÓN DE PLANTAS**

Las especies reactivas de nitrógeno (RNS) están relacionadas con una gran cantidad de biomoléculas, entre las que destacan las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, debido a que son los encargados de mediar la actividad biológica del óxido nítrico (NO) (Petřivalský y Luhová, 2020). Estas biomoléculas y las ROS desempeñan un papel fundamental en los sistemas dinámicos de señalización celular en las plantas, incluso en condiciones de estrés, porque están muy relacionadas para mantener procesos que involucran la señalización celular y la regulación en la biosíntesis de hormonas.

Durante las últimas dos décadas, diversos estudios han avalado la idea de que estas moléculas pueden actuar como moléculas de señalización intracelular e intercelular a muy baja concentración para controlar el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la asociación simbiótica y los mecanismos de defensa en respuesta a condiciones de estrés biótico y abiótico (Khan et al., 2023). Sin embargo, el aumento de ROS y RNS en condiciones estresantes puede provocar daño celular, retraso en el crecimiento y retraso en el desarrollo de las plantas. Como moléculas de señalización, ROS y RNS han ganado gran atención por parte de los científicos y se están estudiado en diferentes etapas del desarrollo o ciclo vegetal.



**Figura 1.** Representación esquemática de la absorción de nanopartículas, su movimiento por el interior de las plantas y la fitotoxicidad que pueden causar (Adaptación de: Rajput et al., 2018).



**Figura 2.** Las nanopartículas de óxidos metálicos pueden tener un efecto dual, ya que poseen acción antimicrobiana, a la vez que pueden mostrar toxicidad en las plantas (Adaptación de: Bhattacharjee et al., 2022).

Una de las primeras características de la respuesta inmunitaria de las plantas, es la producción de ROS en diferentes compartimentos subcelulares que regulan la inmunidad de las plantas. El ácido salicílico (SA) se encuentra presente en el reino vegetal de manera diferente para cada especie, donde se requiere del metabolito primario corismato para su obtención, los compuestos generados a partir de su ruta de síntesis, ya sea por la L-fenilalanina y su precursor el ácido benzoico libre, orto-ácido hidroxicinámico o benzoil glucosa según la especie vegetal, o a partir del isocorismato en el cloroplasto (Janda et al., 2020), son considerados como un regulador principal de ROS, que mantiene un equilibrio adecuado, lo cual es crucial para evitar la sobreacumulación de ROS que conduce al estrés oxidativo. Sin embargo, las ROS no solo actúan aguas abajo de la señalización del SA, sino que también son un componente central de un ciclo de auto amplificación que regula la señalización de SA, así como el equilibrio de interacción entre diferentes fitohormonas (Lukan y Coll, 2022).

El aumento de radicales libres de ROS y otras especies oxidativas se producen en el sistema de la planta por diversos estreses ambientales, como altas y bajas temperaturas, estrés por sequía, estrés por luz, infección por patógenos y deficiencia de nutrientes (Yaqoob et al., 2022). El camino principal del sistema vegetal para superar este estrés es utilizar metabolitos primarios y/o involucrar metabolitos secundarios, en donde la neutralización de ROS se logra mediante un intrincado sistema de señalización antioxidante desarrollado por la célula vegetal.

La colonización de plantas en la tierra como organismos fijos, trajo consigo la interacción con diversos factores, con el paso del tiempo estas interacciones promovieron adaptaciones que le permitieron evolucionar y mediante sus células, usar

moléculas de su alrededor como fuente de energía, logrando así la supervivencia (Lyu et al., 2021), sin embargo, al modificar estas interacciones las plantas se ven especialmente afectadas por los cambios en su entorno y, en consecuencia, han desarrollado nuevos mecanismos de aclimatación y adaptación. Inicialmente considerados subproductos del metabolismo aeróbico, las ROS han surgido como las principales moléculas reguladoras en las plantas y ahora se han establecido sus funciones en los primeros eventos de señalización iniciados por la perturbación metabólica celular y los estímulos ambientales (Waszczak et al., 2018).

Las ROS son formas parcialmente reducidas de oxígeno atmosférico, como superóxido radical ( $O_2^{\cdot-}$ ),  $H_2O_2$ , oxígeno singlete ( $^1O_2$ ) y radical hidroxilo ( $OH\cdot$ ), que son altamente reactivos y pueden provocar estrés oxidativo en plantas y otros organismos. Su acumulación induce peroxidación de lípidos, daño de membranas y de ADN/ARN, así como un desequilibrio metabólico (García-Gómez et al., 2017). En el metabolismo aeróbico de las plantas al utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones se producen las ROS.

En el reporte de Bhattacharjee et al. (2022) se analiza la aplicación de NPs de óxidos de metal con énfasis en las actividades antimicrobianas en la agricultura, y señalan cómo la toxicidad celular causada por la producción de ROS afecta el crecimiento, la morfología y la viabilidad de las plantas (Figura 2). Se destaca aún más el papel de dos facetas que presentan las NPs de óxido de plata y cobre, incluidas sus aplicaciones y efectos antimicrobianos. Además, también se discute el factor que modula la nanotoxicidad y la inmunomodulación para la producción de citoquinas, señalando el surgimiento de las NPs de óxido de metal como una fitomedicina, pero advierten del efecto dual de las mismas; o sea promueven el crecimiento de las plantas,

pero también pueden causar fitotoxicidad.

Las plantas producen ROS como parte del metabolismo celular en sus diversos organelos como mitocondrias, cloroplastos, peroxisomas, retículo endoplásmico y en la membrana plasmática (Gupta et al., 2016). Las ROS son continuamente removidas del tejido de las plantas por un complejo sistema antioxidante, en el que participan enzimas y otros metabolitos.

El control de los niveles de oxidantes se logra mediante la inducción de mecanismos antioxidantes de defensa que se componen de metabolitos como el ascorbato (ASC), el glutatión (GSH), el tocoferol, metabolitos secundarios y limpiadores enzimáticos de ROS como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y peroxidasas (POD) (Kim et al., 2017; Shen et al., 2018).

El trabajo de Mittler (2017) señala que las ROS funcionan en las células como moléculas de señalización, pero también se consideran los subproductos tóxicos inevitables del metabolismo aeróbico. Algunos organismos muestran tolerancia a niveles extremos de ROS, lo que destaca la posibilidad de que las ROS no sean tan tóxicas como se pensaba anteriormente, ya que recientemente se demostró que algunos procesos de muerte celular que originalmente se pensaba que eran el resultado de la toxicidad directa de las ROS (es decir, el estrés oxidativo) eran parte de una vía de muerte celular programada/fisiológica, por lo tanto, las ROS son beneficiosas para las células, ya que respaldan los procesos celulares básicos y su viabilidad, siendo el estrés oxidativo el resultado de una activación deliberada de una vía fisiológica de muerte celular.

La generación de ROS se ha establecido como uno de los primeros eventos de señalización implicadas en la respuesta de las plantas al estrés biótico (Takhur, 2013) y abiótico (Mizoni et al., 2012). En algunos

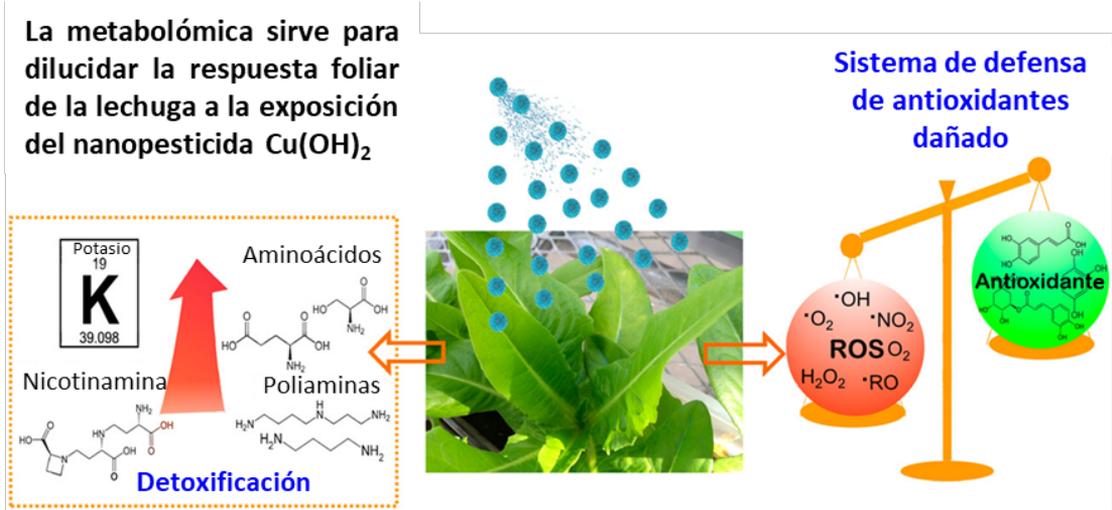
casos, cuando el estrés excede el límite de tolerancia y la capacidad para adaptarse a él, puede ocurrir un daño celular permanente o incluso la muerte de la planta, aunque antes las plantas despliegan su mecanismo de desintoxicación.

En los últimos años se ha producido una afluencia creciente de nanoplaguicidas en la agricultura; debido a eso la comprensión de la interacción entre nanoplaguicidas y/o nanoformulaciones y plantas comestibles es crucial para evaluar el impacto potencial de la NT en el ambiente y los agroecosistemas (Kumar et al., 2022; Yin et al., 2023). La formulación de estos NMs se busca para mejorar la biodisponibilidad de los pesticidas convencionales a partir del cambio en la cinética, mecanismos y vías para eludir la resistencia y aumentar su eficacia de aplicación y absorción (Mubeen et al., 2023).

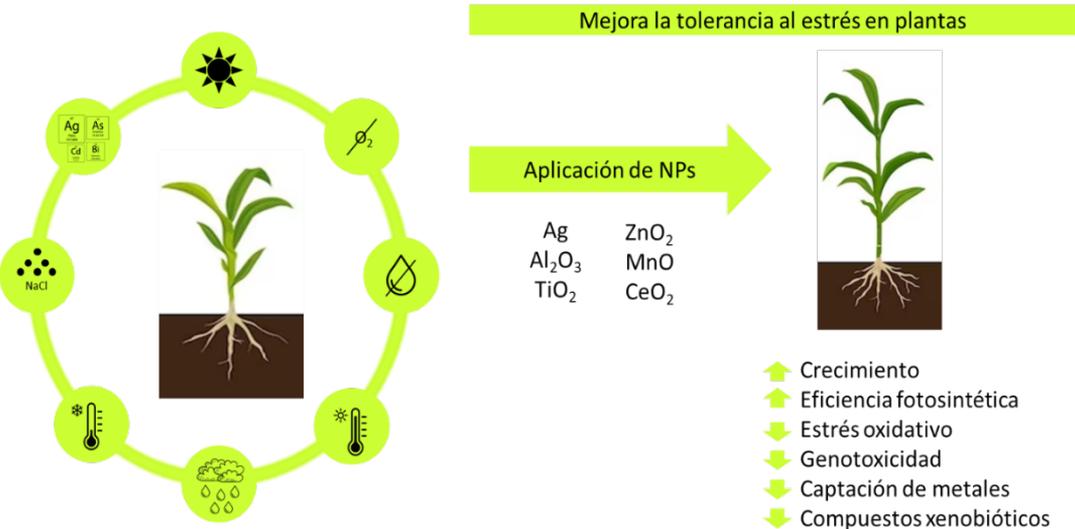
En el estudio realizado por Zhao et al. (2016) se administraron NPs  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  mediante aplicaciones foliares a plantas de lechuga. Los resultados muestran que entre el 97 y el 99% del Cu aplicado fue absorbido por las hojas y sólo un pequeño porcentaje (1-3%) se translocó a través del tejido del floema a la raíz de una manera similar a como se muestra en la Figura 3.

La aplicación del nanocompuesto de cobre alteró los niveles de metabolitos primarios y secundarios en las plantas de lechuga, afectando los niveles de metabolitos antioxidantes como el ácido cis-caféico, ácido clorogénico, ácido 3,4-dihidroxicinámico, ácido dehidroascórbico, indicando la producción del estrés oxidativo. Sin embargo, las plantas fueron capaces de tolerar el estrés causado por el Cu mediante el incremento de nicotianamina, reportado como un quelante de metales divalentes y de los principales precursores de los fitosideróforos.

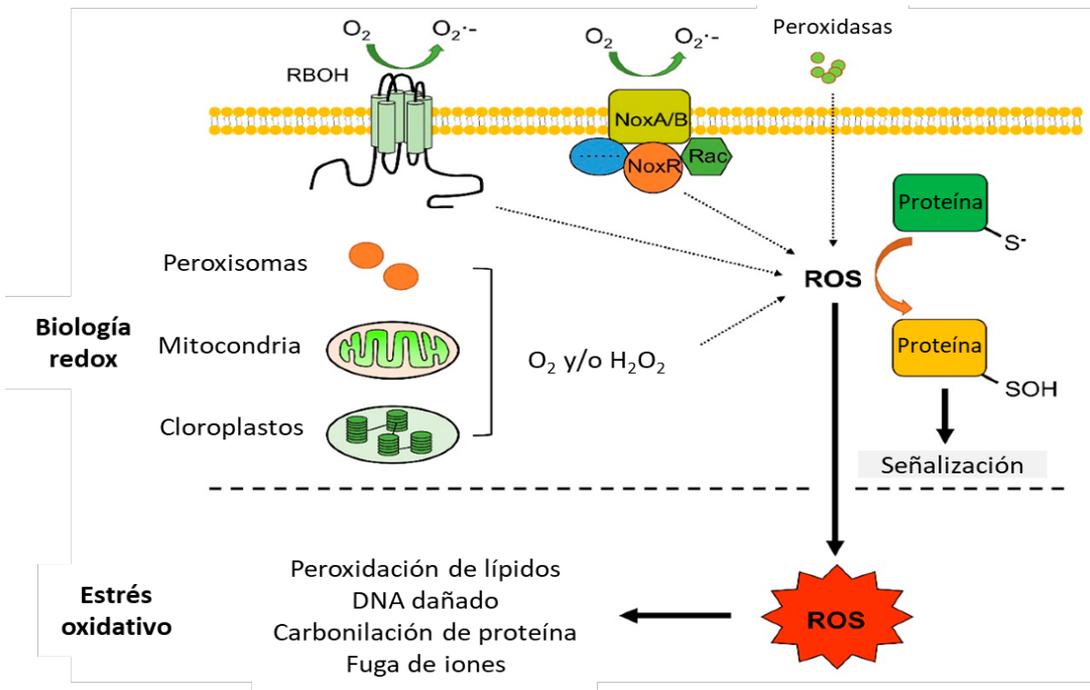
La nicotianamina sintetizada a partir de la S-adenosilmetionina y el catalizador



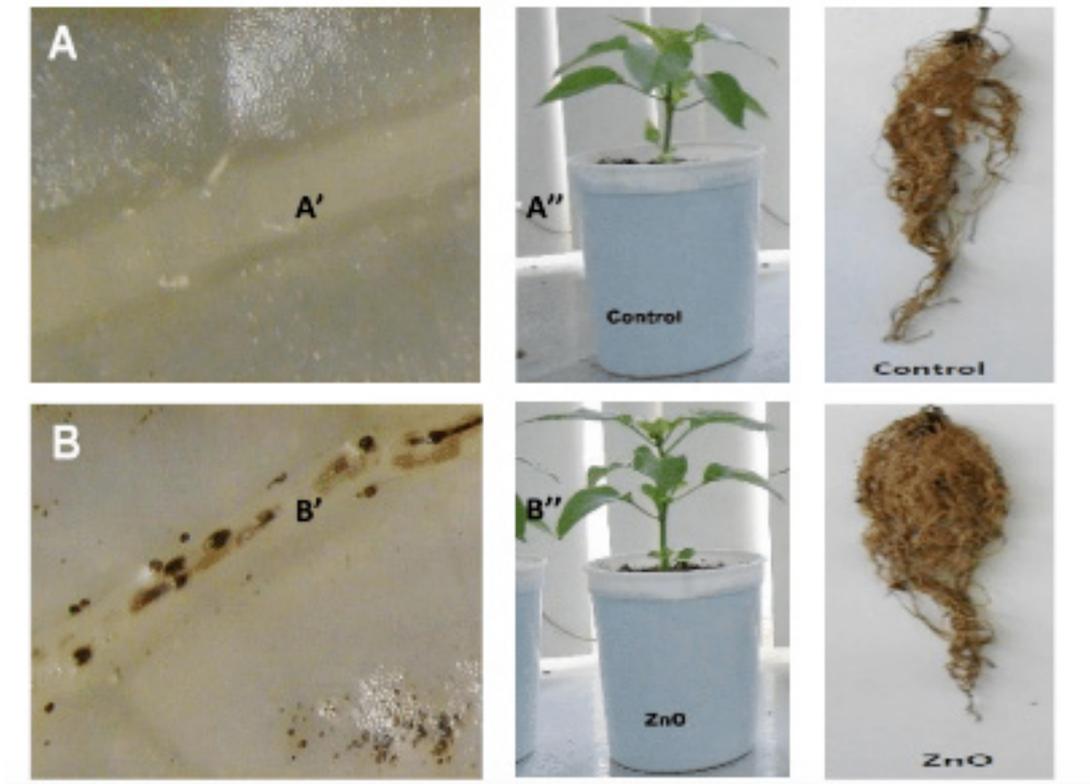
**Figura 3.** Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en plantas de lechuga debido a la aplicación foliar de nanopesticidas de  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  (Adaptación de: Zhao et al., 2016).

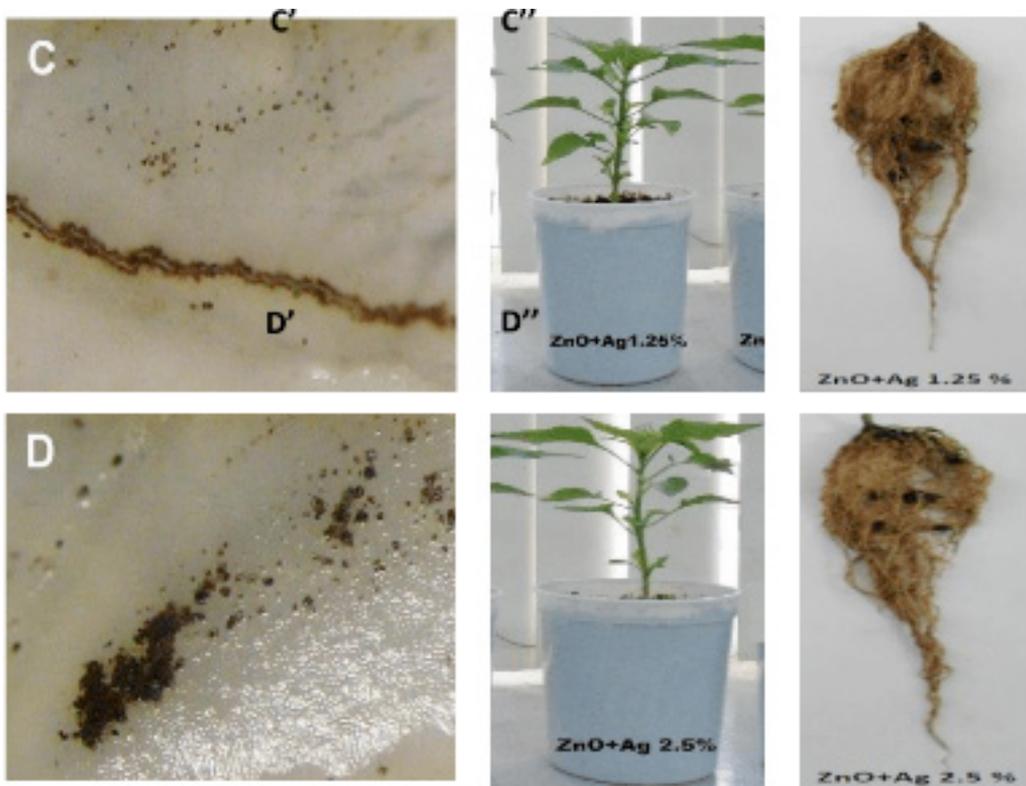


**Figura 4.** Los nanomateriales metálicos mejoran la tolerancia a factores abióticos como la sequía, salinidad, metales pesados, altas y bajas temperaturas, etc. (Elaboración propia).



**Figura 5.** Las ROS son producidas por homólogos de oxidasa afectando organelos como las mitocondrias, cloroplastos, peroxisomas y las peroxidases residentes en la pared celular. La acumulación posterior de  $H_2O_2$  puede oxidar los residuos de cisteína en las proteínas, afectar sus funciones y regular las vías de señalización (Adaptación de: Wang et al., 2019).





**Figura 6.** Plantas de *C. annuum* sometidas a la aplicación de NPsZnO solas y suplementadas con Ag. Dónde: A, B, C y D) formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> *in situ*, A', B', C' y D') representación de crecimiento promedio de área foliar y A'', B'', C'' y D'') representación de crecimiento promedio de área radicular (Adaptación de: Méndez-Argüello et al. 2016).

nicotianamina sintasa (NASA) indicó en un mapeo de 10 genes NAS de maíz la respuesta a iones de metales pesados como níquel (Ni), hierro (Fe), cobre (Cu), magnesio (Mn), zinc (Zn) y cadmio (Cd) (Zhou et al., 2013), lo anterior indica lo complejo que puede ser para las plantas mantener el equilibrio de homeostasis celular a través de la regulación metabólica.

## **IMPLICACIONES DE LOS NMS EN LA PRODUCCIÓN DE ROS EN PLANTAS**

Los NMs se pueden aplicar a las plantas por diferentes vías y entrar en las células. En este trayecto interactúan con las diferentes estructuras celulares como la pared celular, la membrana celular, diferentes organelos e incluso con el núcleo, esto induce una serie de respuestas que van desde la producción de ROS, hasta la modificación de diferentes rutas metabólicas, incluyendo la expresión génica (Juárez-Maldonado, 2023). Este resultado es el aumento en la producción de diferentes metabolitos secundarios y antioxidantes como fenoles, flavonoides, alcaloides, carotenoides, ácido ascórbico, etc. Por lo tanto, conocer el mecanismo de acción de los NMs sobre el sistema antioxidante de las plantas puede ser útil para planificar estrategias de manejo para obtener resultados específicos como el aumento de antioxidantes no enzimáticos que son útiles no solo para la planta sino también para la salud humana.

En la agricultura, el estrés abiótico es uno de los problemas críticos que afectan la productividad y el rendimiento de los cultivos (Waadt et al., 2022). Dichos factores de estrés conducen a la generación de ROS, daño a las membranas y otras actividades metabólicas de la planta. Para neutralizar los efectos nocivos del estrés abiótico, se han empleado varias estrategias que incluyen la utilización

de diversos NMs, los cuales están ganando popularidad en todo el mundo al ser usados para proteger el crecimiento de las plantas contra los tipos de estrés abiótico como sequía, salinidad, metales pesados, temperaturas extremas, inundaciones, etc. (Figura 4). Sin embargo, su comportamiento se ve afectado por la dosis que se utilizan en la agricultura. Además, aún es necesario comprender la acción de los NMs en las plantas sometidas a diversos tipos de estrés (Sarraf et al., 2022).

Los mecanismos tóxicos de los NMs para las plantas dependen de sus características fisicoquímicas, como su naturaleza, morfología, cristalinidad, área superficial de los tipos involucrados, concentración, etc., siendo esto último una propiedad definitiva para que los NMs sean tóxicos o no tóxicos. Los mecanismos generales de fitotoxicidad por NMs para las células vegetales son la inhibición del crecimiento, la germinación de semillas, el alargamiento de raíces, la reducción de biomasa, la alteración del número de hojas y los cambios en el peso de la biomasa fresca (Feregrino-Pérez et al., 2023).

Los NMs son considerados un factor de estrés en las plantas ya que existe la posibilidad de que puedan modificar la estructura y constitución de la pared y membrana celular (Liu et al., 2013). Diversas investigaciones han confirmado que las NPs derivadas del carbón o metálicas son capaces de producir estrés en la planta, generando un exceso de ROS que puede afectar a las proteínas, lípidos, carbohidratos y al ADN (Zuverza-Mena et al., 2107); así como el metabolismo secundario mediante un estallido oxidativo vía ROS (Marstin et al., 2017).

Por su parte, Wang et al. (2018) señalan que el exceso de ROS causa oxidación de lípidos, daño en el ADN, proteínas y lesiones en otros componentes celulares como las mitocondrias, cloroplastos y peroxisomas (Figura 5). Algunas NPs metálicas de Cu, Ni,

Zn, TiO<sub>2</sub> y óxido de cerio (CeO<sub>2</sub>), tienen la capacidad de producir ROS vía reacciones de Fenton u otras reacciones de óxido-reducción, debido a la capacidad de alternar entre estados de oxidación.

Perreault et al. (2010) reportan que las NPs de óxido de cobre (CuO) inhibieron los rendimientos cuánticos del fotosistema II en la planta acuática *Lemna gibba*, además causaron la extinción de la fluorescencia asociada con el transporte de electrones. A través de experimentos *in vitro* Pariona et al. (2019) investigaron la eficacia antifúngica contra *Fusarium solani*, *Neofusicoccum* sp. y *Fusarium oxysporum*.

Aunque la actividad antifúngica difiere para cada especie de hongo, se encontró que las NPs<sub>Cu</sub> inducen fuertes cambios morfológicos en el micelio. Además, el daño de las membranas celulares de los patógenos fue revelado por observaciones microscópicas. Para los tres hongos evaluados, la microscopía de fluorescencia demostró la generación intracelular de ROS en el micelio. Este trabajo demuestra que las NPs<sub>Cu</sub> biosintetizadas son antifúngicos contra *F. solani*, *Neofusicoccum* sp. y *F. oxysporum*.

Otras NPs tienen efectos contrarios a lo antes mencionado, ya que pueden disminuir las concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> intracelular y la peroxidación lipídica, al actuar como algunas enzimas antioxidantes involucradas en los sistemas de defensa (Rehana et al., 2017). Se ha mencionado que las NPs incrementan la eficiencia de las reacciones de oxidación-reducción, al actuar como centro de retrasmisión de electrones (Mallick et al., 2006).

Los resultados de Wei y Wang (2013) demostraron que las NPs<sub>CeO<sub>2</sub></sub>, óxido de hierro (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) y tetraóxido de cobalto (Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), generan reacciones que imitan la actividad de las enzimas catalasa y peroxidasa. Por su parte, las NPs<sub>CeO<sub>2</sub></sub> y fullerenos demostraron

tener la capacidad de realizar la reacción de la superóxido dismutasa. Sin embargo, la fitotoxicidad causada por las NPs genera un comportamiento impredecible e irregular sobre el estrés oxidativo, el cual depende del tipo, concentración, propiedades y medios de exposición de las NPs (Foltete et al., 2011; Song et al., 2012). Debido a esos resultados, el efecto y los mecanismos de acción de las NPs en la modulación del sistema de defensa antioxidante en las plantas no está claro o totalmente esclarecido.

## **ESTRÉS OXIDATIVO EN LAS PLANTAS DEBIDO A LA APLICACIÓN DE NPS**

La investigación de Prakash et al. (2022) demuestra que la suplementación exógena de NPs de ZnO a 25 µM activa mecanismos de defensa que confieren a las plántulas de arroz una tolerancia significativa frente al estrés impuesto por la exposición de 100 µM de cromo VI (Cr VI). Además, la suplementación de este nanofertilizante revirtió los efectos inhibitorios del Cr VI sobre el crecimiento y la eficiencia fotosintética. La promoción del crecimiento se asoció principalmente con la función de las NPs<sub>ZnO</sub> en la inducción de la actividad de las enzimas antioxidantes pertenecientes al ciclo ascorbato-glutatión en las plántulas expuestas a Cr, superando los niveles en el tratamiento control. La sobreexpresión de estos genes antioxidantes se correlacionó con la disminución de oxidantes como SOR y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y el aumento de los niveles de antioxidantes no enzimáticos como ascorbato-glutatión (AsA) y GSH.

La inducción de ROS luego de interacciones con NPs se ha observado consistentemente en todas las especies de plantas. Teniendo en cuenta el vínculo existente entre las ROS y los mensajeros de señalización secundarios que conducen a la regulación transcripcional del metabolismo secundario, en esta perspectiva

Marslin et al. (2017) presentaron el argumento de que las ROS inducidas en las plantas tras su interacción con las NPs, probablemente interfieren con el metabolismo secundario de las plantas, los cuales desempeñan una acción vital en el rendimiento, la comunicación y la adaptación de las plantas, debido a eso, es de máxima prioridad una comprensión integral del metabolismo secundario de las plantas en respuesta al uso y aplicación de NPs en la agricultura comercial.

Entre los numerosos reportes que tratan de explicar el estrés oxidativo generado por la aplicación de NPs, el trabajo de Wang (2012) menciona una acumulación de  $H_2O_2$  en las hojas de maíz expuestas a la aplicación de  $NPsCeO_2$ , los autores revelan un incremento en la actividad de la CAT y ascorbato peroxidasa para mantener el equilibrio redox; sin embargo, en plantas de tomate la aplicación de NPs de ferrita de cobalto ( $CoFeO_4$ ) provocó un efecto diferente al inhibir la actividad enzimática de la CAT, lo cual se relacionó con un incremento de ROS en tejidos de las plantas estudiadas (López et al., 2016).

Aunque las células de plantas están equipadas con mecanismos para secuestrar las ROS, el equilibrio puede ser perturbado bajo una descarga oxidativa provocada por estrés abiótico (Majumdar et al., 2014); al respecto Méndez-Argüello et al. (2016) realizaron un experimento para visualizar la producción de  $H_2O_2$  en hojas de *Capsicum annuum*, los autores concluyeron que la aplicación foliar de  $NPsZnO$  generaron la producción de ROS.

Se observó que la producción de  $H_2O_2$  ocurrió debido a la aplicación de  $NPsZnO$  y  $NPsZnO$  mezcladas con Ag después de 24 h de su aplicación en plantas de chile, siendo la aplicación de  $NPsZnO + Ag$  2.5% las que mostraron la mayor producción de frutos (Figura 6 B, C y D). Sin embargo, se verificó la activación de enzimas del sistema antioxidante (CAT, APX), las cuales ayudaron

a disminuir el contenido de  $H_2O_2$  en hojas de las plantas de *C. annuum*, resultando en una mayor producción de biomasa y crecimiento radicular (Figura 6 B', C', D', B'', C'' y D'').

El estrés oxidativo en las plantas puede interferir con las reacciones bioquímicas y reducir la fotosíntesis e intercambio gaseoso por la alta producción de ROS (Adrees et al., 2015). El exceso de NPs metálicas causa una reducción significativa en el contenido de la clorofila total de plantas (Rao y Shekhawat, 2014).

El efecto de las NPs metálicas en las plantas depende principalmente de la duración del estrés a las que son sometidas; por ejemplo, Shaw et al. (2014), después de 10 días de haber aplicado las NPs no encontraron cambios en el contenido de clorofila en las hojas de avena cuando aplicaron 0.5, 1.0 y 1.5  $mg L^{-1}$  de  $NPsCu$ , pero en cambio sí observaron una reducción significativa del crecimiento de las plantas a los 20 días de la aplicación del tratamiento.

Ha sido señalado que altas dosis de NPs provocan fitotoxicidad e inducen estrés oxidativo, daño en el ADN y muerte celular, debido a alteraciones estructurales de la célula (Ghosh et al., 2016). La presencia de niveles altos de Zn en suelos se ha reportado como fitotóxico, esto ocasiona una amplia gama de anomalías en los parámetros fisiológicos y bioquímicos de las plantas, actividad que puede ser cambiante dependiendo la especie vegetal y su desarrollo; conocer la información sobre la biodisponibilidad del Zn, la capacidad de unión que presenta con el suelo y su participación en la homeostasis y translocación en presentaciones nanométricas podría utilizarse para una producción agrícola sustentable a nivel mundial (Kaur y Garg, 2021).

## MECANISMOS DE INTERACCIÓN DE NPS CON LAS PLANTAS

Cuando las NPs están en el suelo, pueden adsorberse en la superficie de la raíz, seguidas de su absorción y movimiento inter/intracelular en los tejidos de la planta. Las NPs también pueden ser absorbidas por el follaje a través de estomas, tricomas y cutículas, pero el modo exacto de entrada de las NPs en las plantas no está bien documentado. Las interacciones NPs-planta pueden conducir a efectos inhibitorios o estimulantes sobre la germinación de semillas y el desarrollo de la planta, dependiendo de las composiciones y concentraciones en la aplicación de las NPs (Khan et al., 2019).

En numerosos casos, la eficiencia de absorción de radiación, la capacidad de asimilación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y el retraso en el envejecimiento de los cloroplastos han sido reportados en la respuesta de las plantas a los tratamientos con NPs, aunque los mecanismos involucrados en estos procesos aún están por estudiar. Los mecanismos de interacción entre NPs y las plantas pueden ser químicos o físicos. Las interacciones químicas implican la producción de ROS, la perturbación del transporte de iones de la membrana celular, daño oxidativo y peroxidación de lípidos (Ingle et al., 2014).

Después de la entrada o penetración en las células vegetales, las NPs se comportan como iones metálicos y reaccionan con los grupos sulfhidrilo y carboxilo alterando la actividad de las proteínas. Los NMs ejercen toxicidad indirecta que afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas, y en algunos casos se genera deficiencia de nutrientes, sin embargo, dicha fitotoxicidad puede presentarse por las propiedades inherentes de las NPs y por la preparación de las soluciones (Liu y Lal, 2015; Peralta-Videa et al., 2014).

Las NPs enfrentan diferentes cambios (sedimentación, disolución, aglomeración,

etc.) durante el período de preparación de la solución y la aplicación a las plantas (Lievonen et al., 2106). Debido a la mayor área superficial que tienen las NPs, adsorben fácilmente moléculas orgánicas y iones inorgánicos del medio nutritivo provocando síntomas de toxicidad incluyendo clorosis y marchitamiento en las plantas (Wang et al., 2016).

Por otra parte, durante la interacción de las NPs con las plantas, los ácidos orgánicos exudados por las raíces disminuyen el pH del suelo o del sustrato, alterando así el suministro de nutrientes (Hossain et al., 2015). La fitotoxicidad de las NPsAg se ha evaluado ampliamente en diversos cultivos, principalmente a nivel morfológico, fisiológico y bioquímico. Sin embargo, sólo pocos estudios han dado importancia a los efectos del estrés en las plantas a nivel proteómico.

El reporte de Mirzajani et al. (2014) muestra los resultados de un estudio proteómico para entender los efectos de la toxicidad de las NPsAg en plantas de arroz (*Oryza sativa*). El estudio reveló que estas NPs generan estrés oxidativo, alteran la regulación del calcio (Ca<sup>2+</sup>) y tienen efecto en la señalización, transcripción y degradación de proteínas en las plantas; habiendo destacado los autores que el incremento de la producción de las proteínas está relacionado con la defensa que implica la producción acelerada de ROS.

Un estudio proteómico de raíces de rúcula (*Eruca sativa* Mill) expuestas a la aplicación de NPsAg reveló que causaron cambios en las proteínas relacionadas con la regulación Redox, lo que altera la homeostasis celular (Vannini et al., 2013). La fitotoxicidad por materiales extraños es importante en las plantas, debido a que continuamente están sometidas a la aplicación excesiva de fertilizantes y pesticidas.

Las NPs por su tamaño pueden causar mayor acumulación y fitotoxicidad e inducir

daños al nivel celular y molecular. Lin y Xing (2007 y 2008) señalan que la aplicación de NPsZnO en zacate Rye grass (*Lolium perenne* L.) redujo significativamente la biomasa; las puntas de las raíces se encogieron y las células corticales y epidermales colapsaron, indicando que las NPs causaron daños o toxicidad. Aunque su modo de acción no está totalmente claro, ha sido notorio que provocan ruptura de membranas, oxidación de proteínas, genotoxicidad y producción de ROS, lo cual incrementa el estrés oxidativo provocado por algunos iones como los de Ag y daño en la síntesis de proteínas, ADN o ARN (Golinska et al., 2014).

En los resultados generados por Dutta et al. (2012) se señala que las NPs y sus iones (Cu, Ag y Zn) pueden producir radicales libres, lo que resulta en la inducción de estrés oxidativo reflejándose en alta producción de ROS. Se ha determinado que las NPsAg se pueden adherir a la membrana celular, alterando la permeabilidad y las funciones respiratorias de la célula. Dichas NPs no sólo interactúan con la superficie de las membranas, sino que también penetran a su interior, interactuando con los diferentes organelos a nivel del ADN en el núcleo (Hajipour et al., 2012).

Por otro lado, se ha consignado que en dosis bajas las NPs poseen un efecto positivo en la germinación de semillas y en la promoción del crecimiento vegetal. Sharma et al. (2012), reportan que las NPsAg promueven el crecimiento de plántulas. Además, pueden mejorar la eficiencia de intercambio de electrones a nivel celular, lo que podría reducir la formación de especies ROS (Ghorbanpour et al., 2018).

Estudiando el efecto de NPsAg en cultivos de grano Salama (2012), experimentó con plantas de frijol y maíz, habiendo observado que esas NPs incrementan la concentración de carbohidratos y contenido de proteína en las plantas. Por otro lado, NPsTiO<sub>2</sub> aplicadas al

follaje, causaron un incremento en la actividad de varias enzimas y promovieron la absorción del nitrato, el cual acelera la transformación del nitrógeno inorgánico a orgánico, haciéndolo más asimilable, reflejándose esto en mayor crecimiento vegetal (Rezaei et al., 2015).

Aunque no todas las NPs tienen el mismo efecto en las plantas, García et al. (2011) señalan que las NPs de cerio (Ce) fueron extremadamente tóxicas en un conjunto de ensayos realizados con diversos cultivos como: *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus*, *Solanum lycopersicum*, *Spinacia oleracea*, *Allium porrum* y *C. annuum*, habiendo determinado que en pruebas de germinación de algunas semillas se detectó un efecto perjudicial (fitotoxicidad) al disminuir el porcentaje de germinación.

## **EFFECTOS MORFOLÓGICOS, FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE LAS NPS EN PLANTAS**

El análisis global de fosfoproteómica realizado por Guo et al. (2022) identificó 132 proteínas fosforiladas y 173 sitios de fosforilación en hojas de cebada (*Hordeum vulgare*) expuestas a la combinación de NMs, que estaban relacionados con la fotosíntesis, la fijación de carbono, el metabolismo del nitrógeno y el metabolismo de la arginina y la prolina.

Un análisis fisiológico adicional indicó que la combinación de NPsZnO y nanoplasticos causó un mayor daño a los sistemas de metabolismo de carbohidratos y antioxidantes, como lo demuestra la disminución de las actividades de las peroxidasa apoplásticas (25.10 - 48.60 %), glutatión reductasa (91.07 - 94.94 %) y sacarosa sintasa (53.59 % - 61.19 %) en las raíces, así como un aumento de la actividad de la invertasa en la pared celular (12.97 % - 17.61 %) de las hojas, en comparación con los tratamientos con NMs individuales. Estos resultados muestran

que las modulaciones en la fosforilación de proteínas están estrechamente relacionadas con las respuestas fisiológicas a la exposición a NMs, lo que sugiere que la coexistencia de NMs puede generar mayores impactos que los individuales.

Queda claro que las NPs ya sean metálicas o derivadas del carbono, interactúan con las plantas generando numerosos cambios en la morfología y la fisiología, dependiendo de sus propiedades. La eficacia de aplicación de las NPs se determina por su composición química, tamaño, revestimiento superficial, reactividad y lo más importante, la dosis en la cual son aplicadas (Khodakovskaya et al., 2012). Por su parte, los estudios de Hao et al. (2008) permitieron determinar con claridad el modo de absorción, translocación y acumulación de  $\text{NPsFe}_3\text{O}_4$  en diversos tejidos del xilema, floema y mesófilo en plantas de calabaza.

Los efectos de diversas NPs en los cultivos tienen mucha variación con respecto a las especies vegetales, etapa de crecimiento, condiciones de desarrollo, método de aplicación, dosis aplicada e intervalos de aplicación. Por ejemplo, lo publicado por Roghayyeh et al. (2010) revela que las  $\text{NPsFe}$  aumentaron la cantidad de biomasa en soya (*Glycine max* L.) y las  $\text{NPsSi}$  aumentaron la germinación de las semillas, el crecimiento de raíces y brotes laterales, la tasa fotosintética y la biomasa seca en plantas de maíz cultivadas en campo abierto (Suriyaprabha et al., 2012).

Además de los efectos positivos de las NPs en numerosos cultivos agrícolas, también se han registrado importantes efectos negativos, entre los cuales se destaca que diversas NPs alteran la nutrición mineral, fotosíntesis, generan estrés oxidativo y la genotoxicidad inducida como en *Vicia faba* L. y *Allium cepa* L., además, reducen el crecimiento de las plantas (Giorgetti, 2019).

Por otro lado, la fisiología y morfología de la

lechuga, espinaca roja, arroz y pepino se vieron afectadas al ser expuestas a concentraciones de 20, 200, 1000, y 2000  $\text{mg L}^{-1}$  de nanotubos de carbón. Las dosis aplicadas causaron menor crecimiento en raíces y tallos a medida que se incrementó la concentración en la solución nutritiva en comparación con las plantas control. Las plantas tratadas mostraron un cambio gradual en la coloración de la hoja de un verde a una tonalidad amarillenta con una mayor dosis aplicada (Begum et al., 2014).

Ha sido señalado que las concentraciones altas de NPs puede repercutir en daños múltiples que causan disminución de la germinación de semillas, tamaño, calidad de plántulas y rendimiento, lo que resulta en alteraciones del metabolismo; promoción o reducción de longitud del tallo y raíces; área foliar; biomasa; acumulación de nutrientes en los tejidos; incremento en la concentración de NPs en granos, tallos y raíces; así como en diversas alteraciones bioquímicas que incluyen la generación de ROS, enzimas antioxidantes y daño a los lípidos, respuestas que se han encontrado en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) por Alharby et al. (2016).

## CONCLUSIONES

La producción de ROS se ha establecido como uno de los primeros eventos de señalización implicados en la respuesta de la planta al estrés biótico y abiótico. Por lo que, la investigación sobre la interacción de las NPs en la modulación del sistema de defensa antioxidante podrá dirigirse hacia un enfoque en el cual, dicha interacción, puede ayudar a potencializar la capacidad de adaptación de las especies vegetales de interés agrícola ante condiciones particulares del ambiente y generar un entendimiento claro sobre las rutas de señalización metabólica activadas, para determinar cómo es que las ROS participan en la genotoxicidad, así como el

crecimiento y desarrollo vegetativo.

Dada la falta de estandarización experimental y las respuestas divergentes, incluso dentro de especies de plantas similares, es difícil concluir cuáles son los efectos de los NMs en las plantas. Según la literatura publicada, los efectos dependen de la concentración de las NPs, los medios de exposición y las especies vegetales. Además, existe la necesidad de una interpretación más profunda sobre los efectos neutros o positivos que las NPs tienen en las plantas, ya que con frecuencia no se enfatizan ni se discuten, en comparación con los efectos adversos para

los organismos fotosintéticos. Otro aspecto importante que, de alguna manera, evita las generalizaciones, es que la mayoría de los resultados provienen de experimentos bajo condiciones controladas. Por lo tanto, es difícil predecir si la respuesta será la misma en condiciones de campo o invernaderos comerciales.

**Agradecimientos.** Al proyecto No. 268 de Fronteras de la Ciencia del CONACYT por el apoyo otorgado para la realización de esta investigación.

## REFERENCIAS

- Abdelsalam, I.M., Ghosh, S., AlKafaas, S.S., Bedair, H., Malloum, A., ElKafas, S.S. y Saad-Allah, K.M. (2023). Nanotechnology as a tool for abiotic stress mitigation in horticultural crops. *Biologia*, 78(1), 163-178.
- Adrees, M., Ali, S., Iqbal, M., Bharwana, S., Siddiqi, Z., Farid, M. y Rizwan, M. (2015). Mannitol alleviates chromium toxicity in wheat plants in relation to growth, yield, stimulation of anti-oxidative enzymes, oxidative stress and Cr uptake in sand and soil media. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 122: 1-8.
- Alharby, H., Metwali, E., Fuller, M. y Aldhebiani, A. (2016). Impact of application of zinc oxide nanoparticles on callus induction, plant regeneration, element content and antioxidant enzyme activity in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) under salt stress. *Archives of Biological Sciences* 68: 723-735.
- Arora, S., Murmu, G., Mukherjee, K., Saha, S. y Maity, D. (2022). A comprehensive overview of nanotechnology in sustainable agriculture. *Journal of Biotechnology*.
- Beig, B., Niazi, M.B.K., Sher, F., Jahan, Z., Malik, U.S., Khan, M.D. y Vo, D.V.N. (2022). Nanotechnology-based controlled release of sustainable fertilizers. A review. *Environmental Chemistry Letters*, 20(4), 2709-2726.
- Bhattacharjee, R., Kumar, L., Mukerjee, N., Anand, U., Dhasmana, A., Preetam, S. y Proćków, J. (2022). The emergence of metal oxide nanoparticles (NPs) as a phytomedicine: A two-facet role in plant growth, nano-toxicity and anti-phyto-microbial activity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 155, 113658.
- Das, D., Datta, A.K., Kumbhakar, D.V., Ghosh, B., Pramanik, A. y Gupta, S. (2018). Nanoparticle (CdS) interaction with host (*Sesamum indicum* L.) its localization, transportation, stress induction and genotoxicity. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 182-194.
- Dasgupta, N. y Ranjan, S. (2018). *Nanotechnology in Food Sector. An Introduction to Food Grade Nanoemulsions*. Springer, Singapore. 305 pp.
- Ding, P., & Ding, Y. (2020). Stories of Salicylic Acid: A Plant Defense Hormone. *Trends in Plant Science*, 25(6), 549-565.
- Eichert, T., Kurtz, A., Steiner, U. y Goldbach, H. (2008). Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water-suspended nanoparticles. *Physiologia Plantarum* 134: 151-160.
- Feregrino-Pérez, A.A., Meraz Dávila, S., Pérez García, C. E., Escobar Ortiz, A., Mendoza Jiménez, D., Piña Ramírez, J. E. y Esquivel, K. (2023). Toxic effects of nanomaterials on plant cellular mechanisms. In *Nanomaterial Interactions with Plant Cellular Mechanisms and Macromolecules and Agricultural Implications* (pp. 171-209). Cham: Springer International Publishing.

- Foltete, A., Masfaraud, J. y Bigorgne, E. (2011). Environmental impact of sunscreen nanomaterials: ecotoxicity and genotoxicity of altered TiO<sub>2</sub> nanocomposites on *Vicia faba*. *Environmental Pollution Journal* 159: 2515-2522.
- García, A., Espinosa, R., Delgado, L., Casals, E., González, E., Puentes, V. y Sánchez A. (2011). Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and iron oxide nanoparticles using standardized tests. *Desalination* 269: 136-141.
- García-Gómez, C., Obrador, A., González, D., Babín, M. y Fernández, M.D. (2017). Comparative effect of ZnO NPs, ZnO bulk and ZnSO<sub>4</sub> in the antioxidant defences of two plant species growing in two agricultural soils under greenhouse conditions. *Science of the Total Environment*, 589, 11-24.
- Ghorbanpour, M., Farahani, A.H.K. y Hadian, J. (2018). Potential toxicity of nano-graphene oxide on callus cell of *Plantago major* L. under polyethylene glycol-induced dehydration. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 910-922.
- Ghosh, M., Jana, A., Sinha, S., Jothiramajayam, M., Nag, A., Chakraborty, A. y Mukherjee A. (2016). Effects of ZnO nanoparticles in plants: cytotoxicity, genotoxicity, deregulation of antioxidant defenses, and cell-cycle arrest. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 807: 25-32.
- Giorgetti, L. (2019). Effects of nanoparticles in plants: Phytotoxicity and genotoxicity assessment. *Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms*, 65-87.
- Golinska, P., Wypij, M., Ingle, P., Gupta, I., Dahm, H. y Rai, M. (2014). Biogenic synthesis of metal nanoparticles from actinomycetes: biomedical applications and cytotoxicity. *Applied Microbiology Biotechnology* 98: 8083-8097.
- Guo, J., Li, S., Brestic, M., Li, N., Zhang, P., Liu, L. y Li, X. (2023). Modulations in protein phosphorylation explain the physiological responses of barley (*Hordeum vulgare*) to nanoplastics and ZnO nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials*, 443, 130196.
- Gupta, D., Palma, J. y Corpas, F. (2016). Redox state as a central regulator of plant-cell stress responses. *Springer Nature, Switzerland*. 387 pp
- Hajipour, M., Fromm, K., Ashkarran, A., Jimenez, A., Ruiz, L., Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W. y Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology* 30: 499-511.
- Hao, Z., Jie, H., John, Q., Xiao, Y. y Yan, J. (2008). Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. *Journal of Environmental Monitoring* 10: 713-717.
- He, X., Deng, H. y Hwang, H. (2019). The current application of nanotechnology in food and agriculture. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(1), 1-21.
- Hong, J., Wang, L., Sun, Y., Zhao, L., Niu, G., Tan, W. y Gardea-Torresdey, J.L. (2016). Foliar applied nanoscale and microscale CeO<sub>2</sub> and CuO alter cucumber (*Cucumis sativus*) fruit quality. *Science of the Total Environment* 563: 904-911.
- Hossain, Z., Mustafa, G. y Komatsu, S. (2015). Plant responses to nanoparticle stress. *International Journal of Molecular Sciences* 16: 26644-26653.
- Huang, D., Dang, F., Huang, Y., Chen, N. y Zhou, D. (2022). Uptake, translocation, and transformation of silver nanoparticles in plants. *Environmental Science: Nano*, 9(1), 12-39.
- Ingle, A.P., Duran, N. y Rai, M. (2014). Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: a review. *Applied microbiology and biotechnology*, 98: 1001-1009.
- Janda, T., Szalai, G. y Pál, M. (2020). Salicylic acid signaling in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol. 21, Page 2655, 21(7), 2655.
- Juárez-Maldonado, A. (2023). Influence of nanomaterials on non-enzymatic antioxidant defense activities in plants. In *Nanomaterial Interactions with Plant Cellular Mechanisms and Macromolecules and Agricultural Implications* (pp. 273-298). Cham: Springer International Publishing.
- Kalwani, M., Chakdar, H., Srivastava, A., Pabbi, S. y Shukla, P. (2022). Effects of nanofertilizers on soil and plant-associated microbial communities: Emerging trends and perspectives. *Chemosphere*, 287(Pt 2).

- Kaur, H. y Garg, N. (2021). Zinc toxicity in plants: a review. *Planta*, 253(6), 1–28.
- Kazemi, K., Ghahramani, Y. y Kalashgrani, M.Y. (2022). Nano biofilms: An emerging biotechnology applications. *Advances in Applied NanoBio-Technologies*, 3(2), 8-15.
- Khan, M., Ali, S., Al Azzawi, T.N.I., Saqib, S., Ullah, F., Ayaz, A. y Zaman, W. (2023). The key roles of ROS and RNS as a signaling molecule in plant–microbe interactions. *Antioxidants*, 12(2), 268.
- Khan, M., Mobin, M., Abbas, Z., AlMutairi, K. y Siddiqui, Z. (2016). Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiology and Biochemistry* 110: 194-209.
- Khan, M.R., Adam, V., Rizvi, T.F., Zhang, B., Ahamad, F., Joško, I. y Mao, C. (2019). Nanoparticle–plant interactions: two-way traffic. *Small*, 15(37), 1901794.
- Khan, M.N., Li, Y., Fu, C., Hu, J., Chen, L., Yan, J. y Li, Z. (2022). CeO<sub>2</sub> nanoparticles seed priming increases salicylic acid level and ROS scavenging ability to improve rapeseed salt tolerance. *Global Challenges*, 6(7), 2200025.
- Kim, Y.H., Khan, A.L., Waqas, M. y Lee, I.J. (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. *Frontiers in Plant Science*, 8, 510.
- Kumar, R., Kumar, N., Rajput, V.D., Mandzhieva, S., Minkina, T., Saharan, B.S. y Duhan, J.S. (2022). Advances in Biopolymeric Nanopesticides: A New Eco-Friendly/Eco-Protective Perspective in Precision Agriculture. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 12(22).
- Khodakovskaya, M., De Silva, K., Biris, A., Dervishi, E. y Villagarcia, H. (2012). Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. *ACS Nano* 6: 2128–2135.
- Liang, C., Xiao, H., Hu, Z., Zhang, X. y Hu J. (2018). Uptake, transportation, and accumulation of C<sub>60</sub> fullerene and heavy metal ions (Cd, Cu, and Pb) in rice plants grown in an agricultural soil. *Environmental Pollution*, 235, 330-338
- Lievonen, M., Valle-Delgado, J.J., Mattinen, M.L., Hult, E.L., Lintinen, K., Kostianen, M.A. y Österberg, M. (2016). A simple process for lignin nanoparticle preparation. *Green Chemistry*, 18(5), 1416-1422.
- Lin D. y Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution* 150: 243-250.
- Lin D. y Xing, B. (2008). Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environmental Science Technology* 42: 5580-5585.
- Lira-Saldivar, R.H., Vera-Reyes, I., Méndez-Arguello, B., Cardiel-Alanís, A. y De los Santos Villarreal, G. (2022). Physiological responses of crop plants to metal and carbon nanoparticles. *Journal of Engineering Research ISSN 2764-1317*, v. 2, n 4.
- Liu, R. y Lal, R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the Total Environment*, 514, 131-139.
- Liu, Q., Zhang, X., Zhao, Y., Lin, J., Shu, C., Wang, C. y Fang, X. (2013). Fullerene-induced increase of glycosyl residue on living plant cell wall. *Environmental Science Technology* 47: 7490-7498.
- López, M., Avilés, L., Pérez, N., Irizarry, B., Perales, O., Cedeno, M. y Román, F. (2016). Effect of cobalt ferrite (CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles on the growth and development of *Lycopersicon lycopersicum* (tomato plants). *Science of the Total Environment* 550: 45-52.
- Lukan, T. y Coll, A. (2022). Intertwined roles of reactive oxygen species and salicylic acid signaling are crucial for the plant response to biotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(10), 5568.
- Lyu, D., Msimbira, L.A., Nazari, M., Antar, M., Pagé, A., Shah, A. y Smith, D.L. (2021). The coevolution of plants and microbes underpins sustainable agriculture. *Microorganisms* 2021, Vol. 9, Page 1036, 9(5), 1036.
- Malandrakis, A.A., Kavroulakis, N. y Chrysikopoulos, C.V. (2022). Metal nanoparticles against fungicide resistance: alternatives or partners?. *Pest Management Science*, 78(10), 3953-3956.

- Majumdar, S., Peralta, J., Bandyopadhyay, S., Castillo, H., Hernandez, J., Sahi, S. y Gardea, J. (2014). Exposure of cerium oxide nanoparticles to kidney bean shows disturbance in the plant defense mechanisms. *Journal of hazardous materials* 278: 279-287.
- Mallick, K., Witcomb, M. y Scurrall, M. (2006). Silver nanoparticle catalysed redox reaction: an electron relay effect. *Materials Chemistry Physics* 97: 283-287.
- Marslin, G., Sheeba, C.J. y Franklin, G. (2017). Nanoparticles alter secondary metabolism in plants via ROS burst. *Frontiers in Plant Science* 8, 832.
- Mehmood, R., Adnan, M., Imtiaz, M.W., Shahid, M., Awais, M., Shareef, A. y Abideen, Z.U. (2022). Mechanism and role of nanotechnology in photovoltaic cells and applications in different industrial sectors. *Sch Bull*, 8(10), 288-293.
- Melissa, A., Castaño, P., Patricia, D., Durango, M., Polanco-Echeverry, D., Antonio, J. y Arias, C. (2021). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): una revisión sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 161-178.
- Méndez-Argüello, B., Vera, I., Mendoza, E., García, L., Puente, B. y Lira-Saldivar, R.H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova Scientia* 8: 140-156.
- Mirzajani, F., Askari, H., Hamzelou, S., Schober, Y., Römpf, A., Ghassempour, A. y Spengler, B. (2014). Proteomics study of silver nanoparticles toxicity on *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 108: 335-339.
- Mishra, Y., Amin, H.I.M., Mishra, V., Vyas, M., Prabhakar, P.K., Gupta, M. y Tambuwala, M.M. (2022). Application of nanotechnology to herbal antioxidants as improved phytomedicine: An expanding horizon. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113413.
- Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in Plant Science* 22: 1-9.
- Mizoi, J., Shinozaki, K. y Yamaguchi, K. (2012). AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochimica et Biophysica Acta* 1819: 86-96.
- Mubeen, I., Fawzi Bani Mfarrej, M., Razaq, Z., Iqbal, S., Naqvi, S. A. H., Hakim, F. y Li, B. (2023). Nanopesticides in comparison with agrochemicals: Outlook and future prospects for sustainable agriculture. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 198.
- Ndaba, B., Roopnarain, A., HariPriya, R.A.M.A. y Maaza, M. (2022). Biosynthesized metallic nanoparticles as fertilizers: An emerging precision agriculture strategy. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(5), 1225-1242.
- Pandey, P. (2022). Role of nanotechnology in electronics: A review of recent developments and patents. *Recent Patents on Nanotechnology*, 16(1), 45-66.
- Palocci, C., Valletta, A., Chronopoulou, L., Donati, L., Bramosanti, M., Brasili, E. y Pasqua, G. (2017). Endocytic pathways involved in PLGA nanoparticle uptake by grapevine cells and role of cell wall and membrane in size selection. *Plant Cell Reports* 36(12), 1917-1928.
- Pariona, N., Mtz-Enriquez, A. I., Sánchez-Rangel, D., Carrión, G., Paraguay-Delgado, F. y Rosas-Saito, G. (2019). Green-synthesized copper nanoparticles as a potential antifungal against plant pathogens. *RSC advances*, 9(33), 18835-18843.
- Peralta-Videa, J.R., Hernandez-Viezas, J.A., Zhao, L., Diaz, B.C., Ge, Y., Priester, J.H. y Gardea-Torresdey, J.L. (2014). Cerium dioxide and zinc oxide nanoparticles alter the nutritional value of soil cultivated soybean plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 128-135.
- Petrivalský, M. Luhová, L. (2020). Nitrated Nucleotides: New players in signaling pathways of reactive nitrogen and oxygen species in plants. *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Prakash, V., Rai, P., Sharma, N.C., Singh, V.P., Tripathi, D.K., Sharma, S. y Sahi, S. (2022). Application of zinc oxide nanoparticles as fertilizer boosts growth in rice plant and alleviates chromium stress by regulating genes involved in oxidative stress. *Chemosphere*, 303, 134554.

- Rao, S. y Shekhawat, G. (2014). Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2:105–114.
- Rafique, R., Zahra, Z., Virk, N., Shahid, M., Pinelli, E., Park, T.J. y Arshad, M. (2018). Dose-dependent physiological responses of *Triticum aestivum* L. to soil applied TiO<sub>2</sub> nanoparticles: Alterations in chlorophyll content, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production, and genotoxicity. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 255, 95-101.
- Rehana, D., Mahendiran, D., Kumar, R.S. y Rahiman, A.K. (2017). Evaluation of antioxidant and anticancer activity of copper oxide nanoparticles synthesized using medicinally important plant extracts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 1067-1077.
- Rajput, V. D., Minkina, T., Fedorenko, A., Tsiushashvili, V., Mandzhieva, S., Sushkova, S. y Azarov, A. (2018). Metal oxide nanoparticles: Applications and effects on soil ecosystems. *Soil contamination: sources, assessment and remediation*, 81-106.
- Rezaei F, Moaveni, P., Mozafari, H. y Morteza, E. (2015). Investigation of different concentrations and times of nano-TiO<sub>2</sub> foliar application on traits of soybean (*Glycine max* L.) at Shahr-e-Qods, Iran. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 6(5), 109-114.
- Rico, C., Peralta, J. y Gardea, J.L. (2015). Chemistry, biochemistry of nanoparticles, and their role in antioxidant defense system in plants. In *Nanotechnology and Plant Sciences* (Ed. Siddiqui M), Springer International Publishing. pp. 1-17.
- Rodriguez-Torres, M. (2023). Nanotechnology in Pesticide Management. In *Agricultural and Environmental Nanotechnology: Novel Technologies and their Ecological Impact* (pp. 105-125). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Roghayyeh, S.M.S., Mehdi, T.S. y Rauf, S.S. (2010). Effects of nano-iron oxide particles on agronomic traits of soybean. *Notulae Scientia Biologicae*, 2: 112-113.
- Salama, M.H. (2012). Effects of silver nanoparticles in some crop plants, Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *International Research Journal of Biotechnology* 3:190-197.
- Sarraf, M., Vishwakarma, K., Kumar, V., Arif, N., Das, S., Johnson, R. y Hasanuzzaman, M. (2022). Metal/metalloid-based nanomaterials for plant abiotic stress tolerance: An overview of the mechanisms. *Plants*, 11(3), 316.
- Shakeel, M., Jabeen, E., Shabbir, S., Asghar, M., Khan, M. y Chaudhry, A. (2016). Toxicity of nano-titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>-NP) through various routes of exposure. A review. *Biological Trace Element Research* 172: 1-36.
- Shaw, A., Ghosh, S., Kalaji, H., Bosa, K., Brestic, M., Zivcak, M. y Hossain, M. (2014). Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of Syrian barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environmental and Experimental Botany* 102: 37–47.
- Shen, Y., Li, J., Gu, R., Yue, L., Wang, H., Zhan, X. y Xing, B. (2018). Carotenoid and superoxide dismutase are the most effective antioxidants participating in ROS scavenging in phenanthrene accumulated wheat leaf. *Chemosphere* 197: 513-525.
- Singh, A., Singh, N., Afzal, S., Singh, T. y Hussain, I. (2018). Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis, antimicrobial activity, uptake, translocation and biotransformation in plants. *Journal of Materials Science* 53: 185-201.
- Sosan, A., Svistunenko, D., Straltsova, D., Tsiurkina, K., Smolich, I., Lawson, T. y Colbeck, I. (2016). Engineered silver nanoparticles are sensed at the plasma membrane and dramatically modify the physiology of *Arabidopsis thaliana* plants. *The Plant Journal* 85:245-257.
- Song, G., Gao, Y., Wu, H., Hou, W., Zhang, C. y Ma, H. (2012). Physiological effect of anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles on *Lemna minor*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31: 2147-2152.
- Sturikova, H., Krystofova, O., Huska, D. y Adam, V. (2018). Zinc, zinc nanoparticles and plants. *Journal of hazardous materials*, 349, 101-110.
- Suriyaprabha, R., Karunakaran, G., Yuvakkumar, R., Prabu, P., Rajendran, V. y Kannan, N. (2012). Growth and physiological responses of maize (*Zea mays* L.) to porous silica nanoparticles in soil. *Journal of Nanoparticle Research* 14: 1–14.
- Tang, Y., He, R., Zhao, J., Nie, G., Xu, L. y Xing, B. (2016). Oxidative stress-induced toxicity of CuO nanoparticles and related toxicogenomic responses in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Pollution* 212: 605-614.

- Thakur, M. (2013). Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection. A review. Hinadwi Publishing Corporation 1: 1-10.
- Tiwari, A., Barbhuiya, R.I. y Dash, K.K. (2023). Nanotechnology-based sensors for shelf-life determination of food materials. In *Nanotechnology Applications for Food Safety and Quality Monitoring* (pp. 289-300). Academic Press.
- Ulhassan, Z., Khan, I., Hussain, M., Khan, A. R., Hamid, Y., Hussain, S. y Zhou, W. (2022). Efficacy of metallic nanoparticles in attenuating the accumulation and toxicity of chromium in plants: Current knowledge and future perspectives. *Environmental Pollution*, 120390.
- Vannini C., Domingo G., Onelli E., Prinsi B., Marsoni M., Espen L. y Bracale M. (2013). Morphological and proteomic responses of *Eruca sativa* exposed to silver nanoparticles or silver nitrate. *PLOS ONE* 8: 1-8.
- Waadt, R., Seller, C.A., Hsu, P.K., Takahashi, Y., Munemasa, S. y Schroeder, J.I. (2022). Plant hormone regulation of abiotic stress responses. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 23(10), 680.
- Wang, Y., Ji, D., Chen, T., Li, B., Zhang, Z., Qin, G. y Tian, S. (2019). Production, signaling, and scavenging mechanisms of reactive oxygen species in fruit–pathogen interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(12), 2994.
- Wang, J., Fang, Z., Cheng, W., Yan, X., Tsang, P.E. y Zhao, D. (2016). Higher concentrations of nanoscale zero-valent iron (nZVI) in soil induced rice chlorosis due to inhibited active iron transportation. *Environmental Pollution*, 210, 338-345.
- Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., White, J. y Xing, B. (2012). Xylem and phloem based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environmental Science and Technology* 46: 4434–4441.
- Waszczak, C., Carmody, M. y Kangasjärvi, J. (2018). Reactive oxygen species in plant signaling. *Annual review of plant biology*, 69, 209-236.
- Wei, H. y Wang, E. (2013) Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chemical Society Review* 42: 6060-6093.
- Wei, X., Cao, P., Wang, G., Liu, Y., Song, J. y Han, J. (2021). CuO, ZnO, and  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles modified the underground biomass and rhizosphere microbial community of *Salvia miltiorrhiza* (Bge.) after 165-day exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 217, 112232.
- Xin, X., Nepal, J., Wright, A. L., Yang, X. y He, Z. (2022). Carbon nanoparticles improve corn (*Zea mays* L.) growth and soil quality: Comparison of foliar spray and soil drench application. *Journal of Cleaner Production*, 363, 132630.
- Xu, H., Qu, F., Xu, H., Lai, W., Wang, Y.A., Aguilar, Z.P. y Wei, H. (2012). Role of reactive oxygen species in the antibacterial mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli* O157: H7. *Biomaterials*, 25(1), 45-53.
- Yaqoob, U., Jan, N., Raman, P.V., Siddique, K.H. y John, R. (2022). Crosstalk between brassinosteroid signaling, ROS signaling and phenylpropanoid pathway during abiotic stress in plants: Does it exist?. *Plant Stress*, 100075.
- Yang, J., Cao, W. y Rui, Y. (2017). Interactions between nanoparticles and plants: phytotoxicity and defense mechanisms. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 158-169.
- Yin, J., Su, X., Yan, S. y Shen, J. (2023). Multifunctional nanoparticles and nanopesticides in agricultural application. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 13(7).
- Zhao, L., Ortiz, C., Adeleye, A., Hu, Q., Zhou, H., Huang, Y. y Keller, A. (2016). Metabolomics to detect response of lettuce (*Lactuca sativa*) to Cu(OH)<sub>2</sub> nanopesticides: Oxidative stress response and detoxification mechanisms. *Environmental Science & Technology* 50: 9697-9707.
- Zuverza-Mena, N., Martínez-Fernández, D., Du, W., Hernandez-Viezas, J.A., Bonilla-Bird, N., López-Moreno, M.L. y Gardea-Torresdey, J.L. (2017). Exposure of engineered nanomaterials to plants: Insights into the physiological and biochemical responses-A review. *Plant Physiology and Biochemistry* 110, 236-264.