

Efectos fitotóxicos de las partículas finas de óxido de cobre (II) en el crecimiento de semillas de maíz *in vitro*

Adrián Jáuregui Ramírez¹, Gustavo Cruz Jiménez², Cynthia Denisse Caudillo Yebra³

¹ Licenciatura en Biología Experimental, División de Ciencias Naturales y Exactas (DCNE), Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato.

² Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas (DCNE), Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato.

³ Licenciatura en Química, División de Ciencias Naturales y Exactas (DCNE), Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato.

a.jauregui.ramirez@ugto.mx¹

cruzg@ugto.mx²

cd.caudilloyebra@ugto.mx³

Resumen

Las Nanopartículas de Cu (NP's Cu) son partículas de entre 1nm y 100nm que se pueden encontrar de forma libre en el ambiente o desprender a causa de combustiones provocadas por el uso de fábricas, automóviles y en general la industria, en cantidades mínimas no representan problemas a sistemas biológicos, pues se pueden encontrar de forma libre en el ambiente, sin embargo estas son capaces de acumularse y bioacumularse en plantas, causando problemas para el sistema vivo en el que se han introducido. Las NP's Cu se han usado en la agricultura como antifúngicos, insecticidas y antiviricos. En este estudio, en maíz (*Zea mays*) las partículas finas de 150 nm de Cu actúan de forma favorable a concentraciones de 1ppm y 10ppm, pues se notó un crecimiento en las semillas y un beneficio antifúngico dentro de todos los tratamientos. Sin embargo, para los tratamientos de 100 y 1000ppm de acetato de cobre, se observó una inhibición en el desarrollo de las plántulas presentando un crecimiento de sistema radicular casi nulo.

Palabras clave: *Zea mays*.; nanopartículas, cobre; nanotoxicología

Introducción

Las NP's (Nanopartículas) se pueden describir como partículas con escala nanométrica de entre 1 y 100 nm aprox (1nm tiene un factor de 10^{-9} m) según Churata (2018). Fitotoxicológicamente las NP's en el ambiente pueden interactuar con las plantas en sistemas acuíferos, aéreos y de suelos, dando como resultado efectos de bioacumulación, biomagnificación o biotransformación para plantas consumidas por humanos como lo es el Maíz (*Zea mays*), que podrían acumular un estrés y toxicidad, afectando el crecimiento celular de raíces y hojas en plantas para consumo humano (Hayes L.K, 2020).

Las NP's de cobre absorbidas mediante el sistema radicular o por los plasmodesmos celulares (encontrados en las hojas de plantas de consumo humano como el maíz, frijol y lenteja, etc.) se conocen por ser materiales dúctiles con características físicas de alta conductividad térmica y eléctrica con morfología redonda y de color marrón negro, comúnmente usadas para diferentes tratamientos como antimicrobianos ante la USEPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica). Las posibles fuentes de estas nanopartículas son: relaves mineros, fundiciones y combustión de distintos tipos de fuentes en el ambiente (automóviles, fábricas, etc.).

En plantas se usan como fertilizantes y pesticidas, confiriendo capacidades de control de patógenos e incrementación de una pared celular más fuerte dependiendo de la especie a aplicar (Ameh T, 2019), demostrando que bacterias, hongos y virus mueren en cuestión de minutos u horas en superficie de NP's de Cu (Churata, 2018).

El maíz transgénico agroindustrializado para consumo humano (*Zea mays*), es una planta monocotiledónea de la familia *Poaceae* que puede alcanzar hasta los 1.70 m de altura.

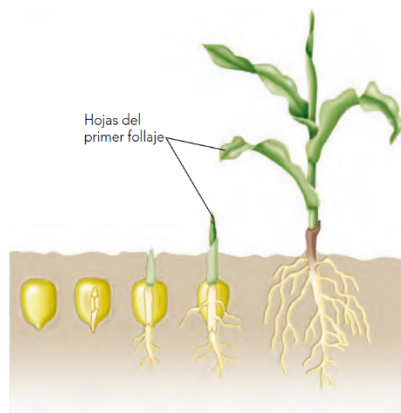


Figura 1. Germinación hipogea, en la cual el cotiledón está por debajo de la tierra. (Nabors, 2006)

Las semillas en germinación presentan un sistema radicular fibroso y uno caulinar con baja densidad de macollos y hojas con nervaduras visibles; al alcanzar la 6ta semana de desarrollo, forman una florescencia femenina amarillenta o blanquecina llamada mazorca, compuesta de frutescencia indehiscentes que se presentan como granos, llamados cariósides (Ortega, 2014). Su germinación es hipogea (Figura 1) con un sistema radicular es fasciculado, desde la zona basal comienza su crecimiento a través de la radícula atravesando la testa y formando raíces segmentadas, su zona pilífera se extiende hasta la zona de elongación para separarse justo en la caliptra incrustada al suelo (Nabors, 2006), donde el sistema radicular es el encargado de absorber agua, minerales y en ocasiones nanopartículas de metales pesados como el Cu.

La siguiente investigación muestra los resultados obtenidos tras exponer semillas en germinación *in vitro* de maíz a diferentes concentraciones de Cu (II) como acetato de cobre y partículas finas de CuO a 150nm.

Materiales y metodos

Preparación y germinación de semillas de maíz

Las semillas de maíz se obtuvieron de una tienda comercial en Guanajuato capital. Para esterilizar las semillas, se utilizó una solución de hipoclorito de sodio al 8% y se agitaron en una parrilla magnética por 30 min de semillas de maíz para desprender su pericarpio. Posteriormente las semillas se sembraron en una zona estéril en cajas de Petri, colocando papeles filtros estériles manteniendo las semillas en medio de 2 papeles humedecidos. Finalmente se adicionaron 6 mL de agua desionizada estéril, se tomó su peso total final y se llevaron a una cámara ambiental es oscuridad total oscura con temperatura (26°C) durante 8 días.

Medición de la raíz germinada

Las semillas en germinación permanecieron en constante observación, pesaje y riego para siempre mantener una cantidad de agua por arriba del 90%. Una vez pasados de 5 a 7 días, se tomaron medidas de la raíz principal salida de la testa, midiendo el largo total usando un pie de rey y se registró la longitud final alcanzada.

Exposición de semillas a Acetato de cobre

La exposición de semillas a $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{OO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ se realizó después de su preparación, la cual requirió una solución nutritiva de Hoagland modificada ajustando el pH a 5 para evitar la precipitación de los nutrientes. En zona estéril y con material inocuo, se adicionaron 8mL de solución estéril de Cu (II) 8 semillas de maíz dentro de 4 cajas Petri, repitiendo para 5 tratamientos con concentraciones de 0, 1, 10, 100 y 1000ppm. Los riegos se realizaron siempre en zona estéril, manteniendo la cantidad de agua desionizada estéril durante 6 días.

Exposición de semillas a partículas finas de Cu (II)

Las partículas finas de óxido de cobre (CuO) fueron sintetizadas en el laboratorio del Dr. Juan Luis Pichardo M. del Centro de Investigación Óptica (CIO) de León, Guanajuato. Se expusieron a estas partículas finas de Cu un total de 8 semillas y se realizaron un total de 3 repeticiones, completando 3 tratamientos con concentraciones de 0ppm, 1ppm y 10 ppm de Cu (II). Los riegos se realizaron en zona estéril, adicionando 8ml de agua desionizada a aquellas cajas que hubiesen perdido una cantidad de agua menor al 90% de la originalmente pesada, y finalmente llevadas a una cámara oscura con temperaturas de entre 17°C y 23°C.

Resultados y discusión

Germinación de las semillas del maíz

Las semillas de maíz fueron germinadas bajo un alto índice de humedad, en una temperatura templada de entre 26°C y 27°C, un alto índice de humedad y buena temperatura provoca una germinación exitosa de las semillas (Ortega, 2014), presentando un resultado de hasta 7 de 8 semillas exitosamente germinadas, con un sistema radicular largo y sano. La germinación promedio fue de 44.8 ± 11.3 (n=4).

Exposición de semillas a solución nutritiva de Hoagland, Acetato de Cu y NP's de Cu.

La solución nutritiva de Hoagland es altamente usada en el cultivo de plantas de consumo, pues imita los nutrientes y micronutrientes requeridos por la planta que comúnmente se encontrarían en un suelo sano. Sin embargo, se encontró que en promedio las semillas que germinaron en solución Hoagland no difieren estadísticamente de las semillas germinadas en agua desionizada sin la solución Hoagland ($p < 0.05$). Esto fue contrario a lo supuesto, ya que se esperaba que la solución Hoagland sirviera para una mejor germinación de las semillas.

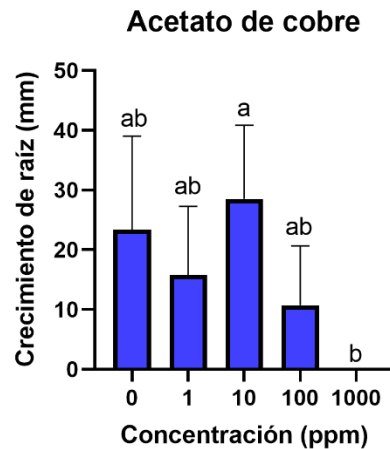


Figura 2. Efectos fitotóxicos del acetato de cobre (II) en raíces de plántulas de maíz (*Zea Mays*). Las barras representan el promedio de crecimiento de raíz en la plántula para los diferentes tratamientos. Las barras de error representan el error estándar (n=4). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

En el caso del las concentraciones de Cu(II) con acetato de cobre, después de 6 días se, se observó que las concentraciones de Cu de 1 a 100 ppm no afectan de manera significativa el crecimiento de la raíz (Figura 2) con respecto al tratamiento control. Sin embargo, se observa que hay diferencias significativas en el crecimiento de las raíces en concentraciones de 10 y 1000 ppm, esto se atribuye a que es probable que la concentración de 10 ppm ayuda en cierta manera al crecimiento de la raíz, y que a la concentración de 1000 ppm no se observó crecimiento alguno. Este poco efecto del cobre en el crecimiento de plantas ha sido observado por Liu R (2016) en lechuga, en donde concentraciones de entre 0.4 y 4 ppm presentan una insignificante afectación en el desarrollo de las semillas in vitro. Afectaciones mayores en el crecimiento de las plantas por cobre, han sido también reportadas por Kasana et al. (2017), quienes observaron que concentraciones entre 500 y 2000 ppm de NP's Cu impactan negativamente el crecimiento de algunas plantas.

En lo referente a las partículas finas de CuO, se utilizaron las de 150 nm debido a que eran las que se tenían disponibles en el momento y que se encuentran muy cercanas al tamaño de las nanopartículas, por lo que esperábamos un comportamiento similar a la NP's de Cu. En este estudio se a las semillas de maíz se dejaron durante 5 días. En este experimento no se encontraron diferencias significativas con respecto al tratamiento control, se obtuvieron resultados poco favorables; los tratamientos de 0ppm, 1ppm y 10ppm presentaron un bajo porcentaje de germinación. Los porcentajes de germinación promedio fueron de 8.3, 5.3 y 0.0 % para los tratamientos de 0, 1 y 10 ppm, respectivamente. Esto indica que para el caso del control es necesario la presencia de Cu (II) para el crecimiento del maíz, y en el caso de los tratamientos de 1 y 10 ppm demuestra el efecto fitotóxico de las partículas finas de Cu (II) al afectar su germinación, esta afectación es parecida a la encontrada en nanopartículas de cobre en altas concentraciones (Kasana, 2017), aunque en este estudio usan mayores concentraciones (de 500 a 2000 ppm).

Conclusión

El uso de la solución Hoagland en la germinación de las semillas de maíz (*Zea mays*) no es significativamente diferente que el uso de agua desionizada. La germinación promedio obtenida de las semillas fue de 44.8 ± 11.3 (n=4).

En los experimentos realizados con acetato de cobre (II) monohidratado, se observó que no existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de 1, 10 y 100 ppm con respecto al control en el crecimiento de la raíz ($p > 0.05$). Sin embargo, se observó una germinación nula en concentraciones de 1000 que indica un efecto en la germinación del maíz a altas concentraciones. La concentración de 10 ppm de Cu (II) fue la que se obtuvo un mayor promedio con respecto al control, aunque este no fue significativo ($p > 0.05$).

Las partículas finas de Cu tuvieron un efecto en el porcentaje de germinación de las semillas de maíz a 1 y 10 ppm de CuO, por lo anterior, no se pudo realizar un análisis estadístico de la longitud de sus raíces.

Agradecimientos

Los autores agradecemos el financiamiento monetario otorgado por la DAIP y al CONACYT por el apoyo al proyecto de infraestructura Convenio 255270.

También se agradece el apoyo otorgado por el Dr. Juan Luis Pichardo Molina del Centro de Investigaciones en Óptica (CIO), León, Guanajuato y a la Dra. Liss Lérida Flores Villavicencio por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo. Además, se agradece la ayuda proporcionada por la Q.F.B. Claudia Karina Sánchez Sánchez por su apoyo en el Laboratorio de Evaluación Toxicológica y Riesgo Ambientales (LETRA) en la DCNE.

Referencias

- Ameh T, Sayes C.M. (2019). *The potential exposure and hazards of copper nanoparticles: A review*. Texas: Department of Environmental Science, Baylor University
- Churata R. (2018). *Selección del material de cobre con aplicación en nanotecnología*. Arequipa, Peru: UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN.
- Hayes L.K, Mui J, Song B, Sani S.E, Eisenman S.W, Sheffield J.B, Kim B. (2020). *Effects, uptake, and translocation of aluminum oxide nanoparticles in lettuce: A comparison study to phytotoxic aluminium ions*. Science of the Total Environment, Vol 719. DOI.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137393
- Kasana R.C, Panwar N.R, Kaul R.K, Kumar P. (2017). *Biosynthesis and effects of copper nanoparticles on plants*. Environ Chem Lett. DOI 10.1007/s10311-017-0615-5
- Liu R, Zhang H, Lal R. (2016). *Effects of Stabilized Nanoparticles of Copper, Zinc, Manganese, and Iron Oxides in Low Concentrations on Lettuce (Lactuca Sativa) Seed Germination: Nanotoxicants or Nanonutrients*. Water Air Soil Pollut. Springer. 1 - 14.
- Nabors, M. W. (2006). *Introducción a la Botánica*. Madrid, España: PEARSON EDUCACION, S.A.
- Ortega I.S. (2014). *Maíz I (Zea mays)*. Reduca (Biología) Serie Botanica, 151-171.