

NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS DE ZINC Y SU POTENCIAL USO COMO AGENTES DE BIOFORTIFICACIÓN.

Manuel Merinero^{*1,2}, Eloísa Pajuelo³, Guillermo Martínez², Belén Begines², Ignacio Rodríguez³, María Jesús Martín⁴, Jesús Alberto Pérez-Romero⁵, Enrique Mateos⁵ y Ana Alcudia²

¹Universidad de Sevilla, Facultad de Medicina, Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica.

²Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia, Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica.

³Universidad de Sevilla, Facultad de Farmacia, Departamento de Microbiología y Parasitología.

⁴Universidad de Sevilla, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica.

⁵Universidad de Sevilla, Facultad de Biología, Departamento de Biología Vegetal y Ecología.

E-mail de correspondencia: Manmerde@us.es

RESUMEN

En la actualidad el hambre y los malos hábitos alimenticios son un problema reconocido por la organización mundial de la salud (OMS). A pesar de todos los esfuerzos propuestos para solventar este problema, la OMS ha admitido que no se alcanzará el objetivo de hambre cero para 2030. Por todo esto y para aportar soluciones imaginativas a este problema, nos propusimos emplear nanopartículas poliméricas cargadas con zinc, junto con la bacteria *Pantoea agglomerans*, promotora de crecimiento de plantas (PGPR), para mejorar el valor nutricional de plantas como el trigo (*Triticum aestivum*), mediante biofortificación. Las plantas de trigo fueron tratadas, tras su previa germinación, y se recogieron medidas de concentración de metales usando técnicas analíticas. Los resultados mostraron que los parámetros físicos y fisiológicos no se vieron afectados y se produjo una acumulación notoria del Zn en la parte aérea.

1. INTRODUCTION

La escasez de nuevos suelos cultivables fértiles para el cultivo de plantas es uno de los desafíos de este siglo, ya que el suelo se considera un recurso no renovable (FAO, 2015). Para paliar este problema, por un lado, se propone el empleo de la fitomicrobiota asociado a las raíces de las plantas (Pérez-Jaramillo *et al.*, 2018). Los mecanismos PGPR, empleados por la fitomicrobiota, son de ayuda para las plantas en múltiples aspectos a la hora de obtener nutrientes del entorno. Por otro lado, recientemente se empezaron a utilizar nanopartículas órgano-metálicas, para mejorar el valor nutricional (biofortificación) de plantas (Bouis and Saltzman, 2018). Por

estas razones, este trabajo propone: Combinar nanopartículas poliméricas de zinc (Zn-NPs) y bacterias PGPR para solventar este problema.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Síntesis de nanopartículas de zinc

Para las síntesis de las Zn-NPs empleadas en este artículo, se usó una modificación de una de las síntesis descritas por Calvo & Remuñán-Lopez en 1997 (Calvo, Remunán-Lopez, Vila-Jato, & Alonso, 1997). A una disolución de 25 ml de ácido acético 0,5 M en agitación a 500 rpm, se le añadieron 50 mg de quitosano de bajo peso molecular y 10 mg de Sulfato de Zinc heptahidratado. Tras 4 horas se le añadió gota a gota a la disolución, 5 mg de polyanion sodium tripolyphosphate (TPP) disueltos en 5 ml de agua miliq y se mantuvo hasta el siguiente día a la misma agitación que la disolución de quitosano. Tras esto la disolución fue sonicada y se midieron el tamaño hidrodinámico, el potencial Z y la polidispersividad (PDI) de la misma al analizador de potencial Z (Zetasizer Nano ZS, Malvern) para comprobar la presencia de nanopartículas.

2.2 Diseño experimental

Las plantas de trigo empleadas en los experimentos fueron previamente germinadas en placas de agar agua, para posteriormente colocarlas en macetas con una mezcla de perlita, vermiculita y arena a partes iguales. Cada experimento tendría cuatro macetas con tres semillas cada una y sería regado tres veces por semana. Las condiciones de cada experimento pueden observarse en la Tabla 1.

Tabla 1. Diseño experimental

NOMBRE	MEDIO HOLLAND	ZN-NPS	PANTOEA AGGLOMERANS
TTo Control	100 ml	No	No
TTo Zn-NPs	100 ml	Espray foliar	No
TTo Pantoea	100 ml	No	Inoculo (3 ml)
TTo combinado	100 ml	Espray foliar	Inoculo (3 ml)

2.3 Medidas fisiológicas y físicas

Para comprobar los estados fisiológicos y físicos de las plantas frente a los distintos tratamientos, se realizaron varias medidas fisiológicas (fluorescencia e Irga, antes de

ser cosechadas) y físicas tras su recogida al cabo de 3 meses (biomasa seca, húmeda, altura y concentración de nutrientes por ICP).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de Zn-NPs

La caracterización de las nanopartículas fue realizada en el Servicio Caracterización Funcional (SCF) situado en el Centro de Investigación, Tecnología e Innovación (CITIUS), mediante un analizador de potencial Z (Zetasizer Nano ZS, Malvern). Las Zn-NPs poseían un tamaño hidrodinámico de 250 nm, un potencial Z de +27,53 mV y una PDI de 0,566.

3.2 Visualización al ME de *Pantoea agglomerans* en la raíz de las plantas de trigo

Para corroborar que el inóculo de *Pantoea agglomerans* colonizaba la raíz se realizó una visualización de esta al microscopio electrónico de barrido de bajo vacío. Para esto se realizó un experimento a pequeña escala, únicamente con el control y *Pantoea* (Tabla 1) en placas de Petri cuadradas estériles, para corroborar que lo que se observará al microscopio fuera la bacteria de interés y no otras. Las imágenes mostraron acumulaciones de bacterias en torno a la raíz (Ilustración 1), aunque con esto no se pudo demostrar su vitalidad, si se observó que colonizaban la raíz.

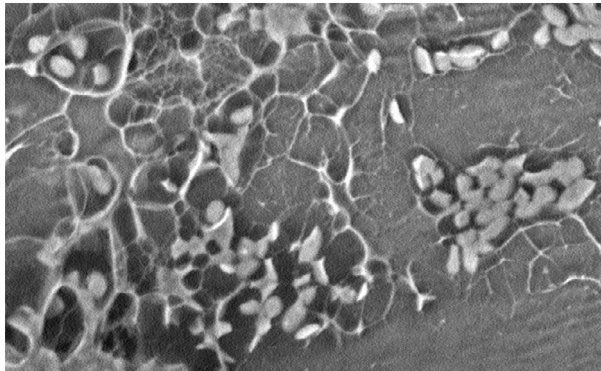


Ilustración 1. *Pantoea agglomerans* en la raíz de plantas de trigo.

Fuente: Microscopio electrónico de barrido de bajo vacío

3.3 Interpretación de las medidas fisiológicas y físicas

En el caso de las interpretaciones medidas tanto físicas como fisiológicas, pudo observarse que ambos no poseían cambios estadísticamente significativos. Sin embar-

go, los datos de ICP mostraron en la espiga del tratamiento combinado diferencias en algunos nutrientes (Gráfico 1). Además, se observó que la concentración de zinc en el tratamiento combinado fue tres veces superior al control en el tallo.

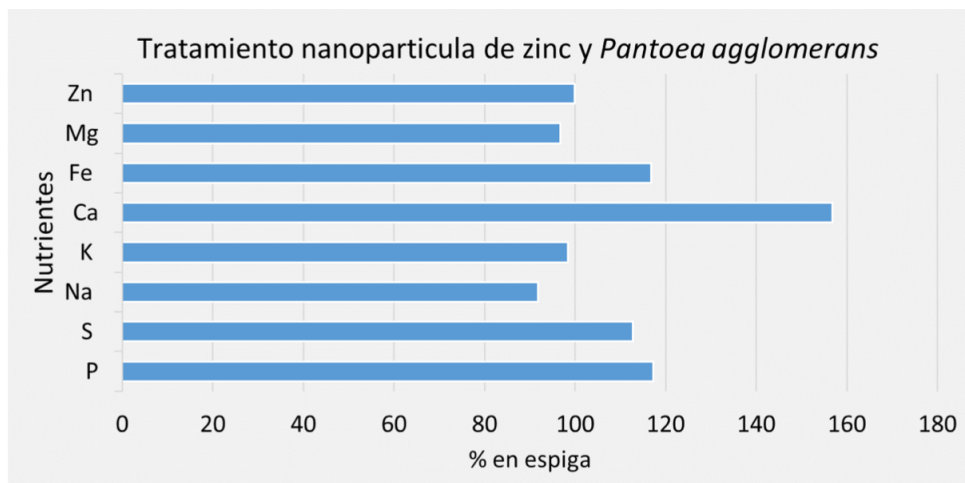


Gráfico 1. Porcentaje de nutrientes en las espigas del experimento combinado, en comparación con el control.

4. CONCLUSIONES

Puede concluirse de este trabajo que la biofertilización fue exitosa, en las espigas se observaron aumentos en el calcio principalmente y en el hierro, azufre y fósforo de forma secundaria.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer el trabajo realizado por todas las personas implicadas en este trabajo y en especial al personal de CITIUS del servicio de Herbario por su excelente trabajo con el ME.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **FAO (Food and agricultural organization)** (2015). International year of soil. <http://www.fao.org/soils-2015/fr/>
2. **Pérez-Jaramillo, J. E., Carrión, V. J., de Hollander, M. & Raaijmakers, J. M.** (2018). The wild side of plant microbiomes. *Microbiome*, 6, 4-9. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0519-z>

3. **Bouis, H. E. & Saltzman, A.,** (2017). Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from Harvest Plus, 2003 through 2016. *Global Food Security*, 12, 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2017.01.009>
4. **Calvo, P., Remuñán-Lopez, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J.** (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science*, 63(1), 125-132. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19970103\)63:1<125::AID-APP13>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19970103)63:1<125::AID-APP13>3.0.CO;2-4)