

# BIOFORTIFICACIÓN DE PLANTAS DE MEDICAGO SATIVA MEDIANTE EL USO DE NANOPARTÍCULAS CARGADAS CON HIERRO

**Manuel Merinero de los Santos<sup>1,2,\*</sup>, María Pérez-Aranda Redondo<sup>1,2</sup>, Belén Begines Ruiz<sup>1</sup>, María Jesús Martín Valero<sup>3</sup>, Salvadora Navarro-Torre<sup>2</sup>, Ignacio D. Rodríguez Llorente<sup>2</sup>, Eloísa Pajuelo Domínguez<sup>2</sup>, Ana Alcudia Cruz<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Facultad de Farmacia, Química orgánica y farmacéutica, Universidad de Sevilla, Sevilla.

<sup>2</sup>Facultad de Farmacia, microbiología y parasitología, Universidad de Sevilla, Sevilla.

<sup>3</sup>Facultad de química, Química analítica, Universidad de Sevilla, Sevilla.

E-mail de correspondencia: [lolo191995@gmail.com](mailto:lolo191995@gmail.com)

## Resumen

El concepto de biofortificación se basa en incrementar el valor nutricional de los diferentes alimentos por medio de métodos de selección, mejora de cultivos o ingeniería genética. En este sentido, el trabajo que presentamos ha utilizado nanopartículas cargadas con hierro como parte de la disolución de riego, con el objeto de evaluar cómo se incorpora este elemento en plantas de cultivo destinadas a la alimentación animal. En este trabajo se empleó como planta experimental la especie *Medicago sativa*, cuyo nombre común es alfalfa y suele usarse como alimento de forrajeo para los animales de granja. Los experimentos mostraron que las nanopartículas tenían efectos muy positivos sobre el crecimiento y se observaba un aumento importante en la concentración de la clorofila de la propia planta.

## 1. Introducción

La falta de micronutrientes, también llamada “The hidden hunger”, es un problema mundial generalizado (Elemike *et al.*, 2019). En este sentido, la biofortificación, es decir, el aumento del contenido de micronutrientes (como Fe, Zn, Se o vitaminas) en las plantas para la mejora nutricional alimentaria, está surgiendo como una solución a este problema. Actualmente, se ha desarrollado como una estrategia muy conveniente, el uso de nanopartículas híbridas orgánico-metálicas (NP) para mejorar el contenido de Zn en las plantas (Bouis y Saltzman, 2018). En particular, sería interesante investigar si las NP mejorarían la capacidad de la planta para acumular más Fe cuando se suministra en forma de alcohol polivinílico combinado con ácido

tánico y nanopartículas de Fe. Vale la pena mencionar que el ácido tánico puede formar complejos con hierro (Fu y Chen, 2019), lo que aumenta las posibilidades de entregar Fe a la planta desde nanopartículas. De hecho, los NP de Zn-quitosano se han utilizado con éxito para proporcionar Zn a las plantas en proyectos de biofortificación (Dapkekar *et al.*, 2018). En el presente trabajo, se abordaron estos objetivos principales: analizar la capacidad de los NP de PVA / TA / Fe para promover el crecimiento, la fisiología de la alfalfa y para aumentar el contenido de Fe en las plantas.

## **2. Materiales y métodos**

### ***2.1. Síntesis de nanopartículas cargadas con hierro***

Al PVA / TA / Fe Nps descrito por Aguilera *et al.*, (2016) se añadió  $\text{FeCl}_3$  anhidro sólido a la suspensión de PVA / TA NPs cambiando la mezcla de blanco a azul verdoso oscuro. La suspensión obtenida se dializó usando una membrana de celulosa contra agua destilada para eliminar el exceso de Fe no cargado en el Nps. Sorprendentemente, después de 48 a temperatura ambiente y agitación, no pudo salir Fe de la membrana, ya que no apareció un color marrón. El protocolo de análisis para el contenido de Fe en el Nps se llevó a cabo siguiendo el procedimiento colorimétrico típico descrito por Burriel *et al.*, (2008) para medir  $\text{Fe}^{2+}$ . En primer lugar,  $\text{Fe}^{3+}$  se redujo a  $\text{Fe}^{2+}$  con ácido ascórbico, que reacciona con o-fenantrolina para obtener un complejo naranja rojizo. La absorbancia de este complejo se mide a 512 nm utilizando un espectrofotómetro. La absorbancia está relacionada con la concentración de Fe usando la ley de Beer-Lambert, para revelar 2200 ppm de concentración total de Fe.

### ***2.2. Condiciones a las que se sometieron las plantas de *Medicago sativa****

Semillas de *Medicago sativa* germinadas previamente se plantaron en macetas (10 semillas por maceta) llenas con 1/3 de arena, 1/3 de vermiculita y 1/3 de perlita blanca, mezcladas y esterilizadas previamente en un autoclave. Las plantas se regaron con la solución estándar de nutrición vegetal (Broughton y Dilworth, 1971) suplementada con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Por otro lado, parte del experimento fue regado con una tercera parte de la solución mencionada anteriormente para simular un suelo pobre. El experimento fue concebido como un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones de cada condición. Cada semana, las plantas se regaron dos veces con las soluciones correspondientes, como se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Condiciones a las que fueron sometidas las plantas de *Medicago sativa*.

Condiciones a las que fueron sometidas las plantas de <i>Medicago sativa</i>			
	Solución de riego	Nanopartículas	Componentes de las NPs sin formarlas
<b>Macetas 1</b>	100%	No	No
<b>Macetas 2</b>	100%	Si	No
<b>Macetas 3</b>	100%	No	Si
<b>Macetas 4</b>	33%	No	No
<b>Macetas 5</b>	33%	Si	No
<b>Macetas 6</b>	33%	No	Si

**Fuente:** elaboración propia.

### 3. Resultados y discusión

#### *3.1. Efectos de las nanopartículas en el crecimiento y fisiología de las plantas de *Medicago sativa**

El análisis de los datos del crecimiento condujo a la conclusión de que tanto las nanopartículas como la solución de sus componentes tuvieron un efecto positivo en la mayoría de los parámetros de crecimiento de las plantas, en ambos regímenes de riego. Los datos de la fisiología muestran que el efecto es variable, dependiendo de los regímenes de riego y el parámetro fisiológico particular. Por ejemplo, en las plantas regadas con 33% de la solución de riego, tanto las nanopartículas como la solución de las componentes de las mismas mejoraron el estado fisiológico de las plantas.

#### *3.2. Efecto de los componentes de las nanopartículas en la clorofila*

Las plantas regadas con solución de riego al 100% y cultivadas en presencia las componentes de las nanopartículas mostraron un color verde muy oscuro en comparación con sus contrapartes de control (Figura 1). Por estas razones, se analizó el contenido de clorofilas a y b en estas plantas. Los datos indicaron un fuerte incremento de ambos picos de absorbancia a 645 y 664 nm. Esto corresponde a niveles aumentados en el contenido de clorofilas a y b (entre 2-3 veces en comparación con los controles). Es de destacar que este efecto no se observó en las plantas regadas con la solución de riego al 33%. Se revisaron también los niveles de clorofila en las plantas regadas con nanopartículas y a pesar de ser menor la cantidad de las mismas, también se vio una mejora en las mismas en comparación con el control.



**Figura 1.** Plantas de *Medicago sativa* control (izquierda) y con las componentes de las nanopartículas (derecha).

**Fuente:** elaboración propia.

#### 4. Conclusiones

Se concluyó que, la adición de nanopartículas o sus componentes en solución de sus componentes a las plantas tuvo un efecto positivo en el crecimiento. Además, estas plantas también presentaban una mejora en la cantidad de clorofila a y b.

#### Agradecimientos

A las personas que ayudaran a realizar este trabajo repartidas entre los departamentos de microbiología y química orgánica de la facultad de farmacia

#### Referencias bibliográficas

**Aguilera, J. R., Venegas, V., Oliva, J. M., Sayagués, M. J., de Miguel, M., Sánchez-Alcázar, J. A., Arévalo-Rodríguez, M., y Zaderenko, A. P.** (2016). Targeted multifunctional tannic acid nanoparticles. *RSC Advances*, 6, 7279. <https://doi.org/10.1039/C5RA19405A>

**Bouis, H. E., y 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>

**Dapkekar, A., Deshpande, P., Oak, M. D., Paknikar, K. M., y Rajwade, J. M.** (2018). Zinc use efficiency is enhanced in wheat through nanofertilization. *Scientific Reports*, 8, Article number: 6832. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25247-5>

**Elemike, E. E., Uzoh, I. F., Onwudiwe, D. C., y Babalola, O. O.** (2019). The Role of Nanotechnology in the Fortification of Plant Nutrients and Improvement of Crop Production. *Applied Sciences*, 9(3), 499. <https://doi.org/10.3390/app9030499>