

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIÓN FOLIAR DE NANOPARTÍCULAS EN GIRASOL (*Helianthus annuus* L.) PARA AUMENTAR LA TOLERANCIA A ESTRÉS SALINO

Paire Campanini, Matías

*Facultad de Ciencias Agrarias FCA-UNL
Director/a: Céccoli, Gabriel
Codirector/a: Perez, Adrián*

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Girasol, Nanopartículas, Salinidad

INTRODUCCIÓN

El uso de nanopartículas metálicas en la agricultura es cada vez más frecuente, especialmente con fines bactericidas, pero el universo de posibilidades de uso sobre vegetales pareciera indicar que es muy amplio (Pérez-Labrada et al. 2019). Se ha reportado que el empleo de nanopartículas sobre diversos cultivos acelera el crecimiento y mejora los rendimientos (Olkhovych et al. 2016). Por otro lado, a pesar de su importancia en el comercio internacional, en nuestro país el cultivo de girasol es relegado a zonas marginales (salinas, anegadas, etc) donde su rendimiento potencial se ve limitado (Céccoli et al. 2012). Por lo anterior, en el presente trabajo se evaluaron los efectos de nanopartículas de cobre aplicadas foliarmente sobre plantas de girasol, identificando cuáles son las concentraciones que no generan efectos fitotóxicos y que a su vez optimizan el desarrollo y crecimiento de las plantas.

OBJETIVOS

El objetivo general fue biosintetizar, caracterizar y aplicar nanopartículas que permitan aumentar la tolerancia a la salinidad en el cultivo de girasol.

Los objetivos específicos fueron:

1. Sintetizar dos variedades de nanopartículas metálicas (MNp) a partir de sales de cobre mediante química verde; usando extracto de Aloe vera como agente reductor.
2. Caracterizar, fisicoquímicamente, las MNp en términos de sus propiedades espectrales, distribución de tamaño de partícula y ultraestructura.
3. Cuantificar el efecto de la aplicación foliar de diferentes concentraciones de MNp en dos híbridos de girasol para determinar la concentración óptima para su desarrollo adecuado.

Título del proyecto: SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIÓN FOLIAR DE
NANOPARTÍCULAS EN GIRASOL (*Helianthus annuus* L.) PARA AUMENTAR LA TOLERANCIA
A ESTRÉS SALINO

Instrumento: Cientibeca

Año de convocatoria: 2019

Organismo financiador: UNL

Director/a: Céccoli, Gabriel



METODOLOGÍA

Síntesis y caracterización de nanopartículas metálicas

En la primera parte de la investigación se sintetizaron nanopartículas de sales de cobre (CuNp), utilizando agua desmineralizada como solvente y un extracto comercial de Aloe Vera como agente reductor, siguiendo protocolos modificados de estudios previos (Velsankar et al. 2020 & Pakzad et al. 2019). Se emplearon sulfato de cobre (CuSO_4) y nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) (Research AG, Anedra), en concentraciones de 0,1 M, y se sometieron los preparados a tratamientos térmicos y a ultrasonido para obtener partículas uniformes y evitar aglomeraciones. Posteriormente, las nanopartículas fueron caracterizadas mediante espectroscopía UV-Vis y análisis de distribución de tamaño de partícula, utilizando equipos especializados (Sangeetha et al. 2011). Se midió la conversión del catión Cu^{2+} a nanopartículas de cobre y se determinó la distribución del tamaño de las partículas, realizando todas las mediciones a 25°C y en quintuplicado.

Aplicación foliar sobre las plantas, medición de resultados y evaluación.

En la segunda parte de la investigación se evaluaron tres concentraciones (3 ppm, 60 ppm y 300 ppm) de los dos tipos de CuNp biosintetizadas, junto con un control (0 ppm), que se aplicaron sobre dos híbridos comerciales de girasol ("RAGT Cabildo" y "RAGT Catedral") para establecer una curva dosis/respuesta e identificar la concentración que no causara fitotoxicidad y permitiera un crecimiento y desarrollo adecuado de las plantas (Torobian et al. 2015). Cada unidad experimental (genotipo, tipo de NPs y dosis) fue constituida por cuatro plantas.

Desde el día 5 hasta el día 56 de la siembra, se realizaron observaciones visuales de daños en hojas y se realizaron mediciones morfométricas, incluyendo la altura de las plantas y la dinámica de la expansión foliar de todas las hojas (Dosio et al. 2003), con especial atención a las hojas 4, 8 y 12. Al final del experimento, se determinó el área foliar total de las plantas (AFT/PI).

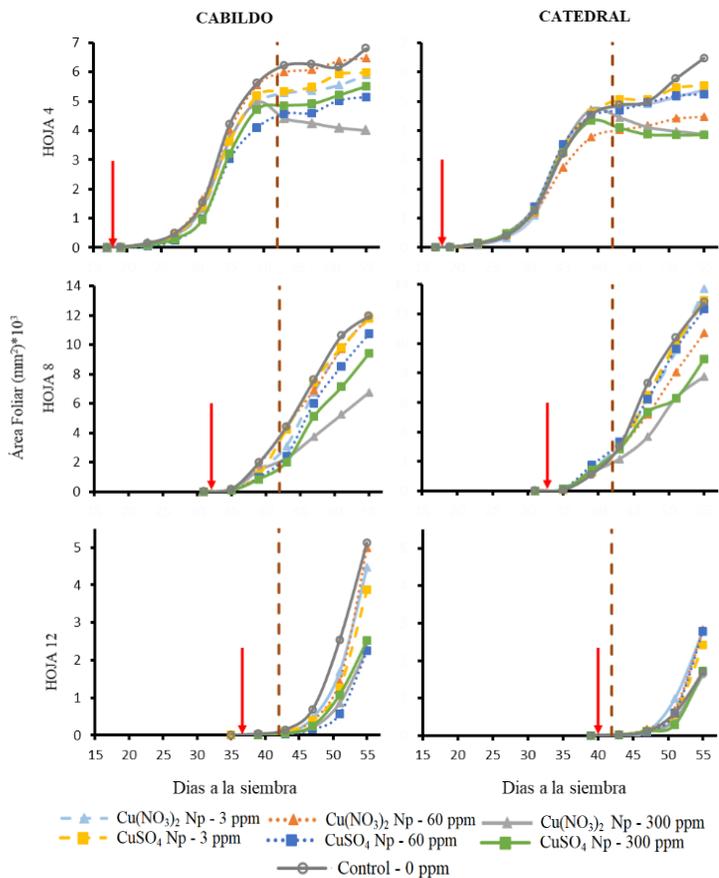


Figura N°1: Efecto de la aplic. foliar de CuNp sobre la dinámica de la expansión foliar de las Hojas 4, 8 y 12, de dos híbridos comerciales de girasol (Cabildo y Catedral), empleando CuNO_3 Np "▲" y CuSO_4 Np "■", a diferentes concentraciones (3 ppm, 60 ppm y 300 ppm) y la condición control libre de CuNp "○".

Las semillas se sembraron en bandejas multiceldas y luego las plántulas se trasplantaron individualmente en macetas de 5 litros con sustrato Growmix Multipro® (Terra Fertil). Se realizaron riegos diarios para mantener una condición hídrica de capacidad de campo. Cuando las plantas alcanzaron el estado fenológico V12 se aplicaron, foliarmente, las nanopartículas de cobre sobre todas las hojas hasta que quedaran completamente mojadas, usando un aspersor manual tipo spray (Kolenčík et al. 2017).

La **Figura N°1** muestra los efectos de las nanopartículas en la expansión foliar de las hojas 4, 8 y 12 de ambos híbridos, así como el momento de la aplicación foliar (línea punteada vertical roja) y la aparición de la primera hoja (flecha roja). Con los datos de la última medición se ajustaron las gráficas del Área Foliar Total por planta promedio (AFT/PI) para comparar los diferentes tratamientos con el control (**Figura N°2**).

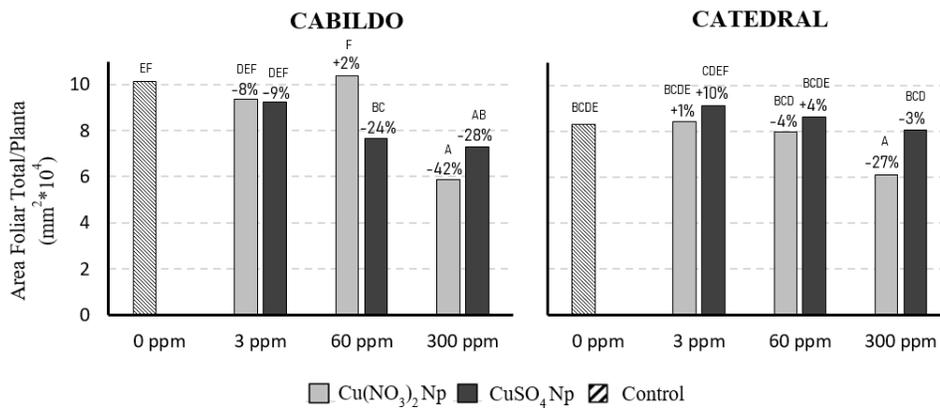


Figura N°2: Efecto de la aplic. foliar de CuNp sobre el AFT/PI de dos híbridos de girasol (Cabildo y Catedral), tras 56 días desde la siembra. La barra rallada expresa el tratamiento control (0 ppm), las barras grises claras los trat. sometidos a CuNO₃ Np y las barras grises oscuras los trat. sometidos a CuSO₄ Np, bajo tres concentraciones (3 ppm, 60 ppm y 300 ppm). Y porcentajes de ganancia o pérdida de AFT/pl., respecto a Control.

La altura de plantas y sus cambios por el efecto de la aplicación de las nanopartículas se muestran en la **Figura N°3**.

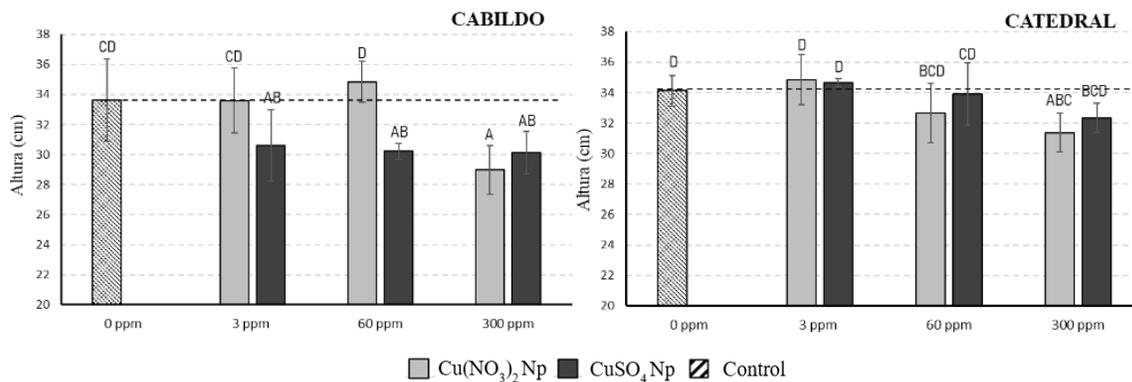


Figura N°3: Efecto de la aplic. foliar de CuNp sobre la altura de las plantas en dos híbridos de girasol (Cabildo y Catedral) tras 56 días desde la siembra. La barra rallada expresa el tratamiento control (0 ppm), las barras grises claras los trat. sometidos a CuNO₃ Np y las barras grises oscuras los trat. sometidos a CuSO₄ Np, bajo tres concentraciones (3 ppm, 60 ppm y 300 ppm).

CONCLUSIONES

Las conclusiones más importantes fueron:

1. Se logró convertir exitosamente el catión Cu^{2+} de las sales a nanopartículas de cobre (CuNp) mediante un proceso de síntesis verde usando Aloe vera y procesos físicos sencillos (calor, secado y ultrasonidos), obteniendo propiedades adecuadas para la aplicación foliar en girasol.
2. Se determinó que la concentración de 300 ppm para ambos tipos de CuNp resulta fitotóxica e inhibe el crecimiento de los híbridos de girasol.
3. Las dos nanopartículas analizadas tuvieron diferentes efectos en los híbridos de girasol.
4. La combinación: híbrido Cabildo, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ Np a 60 ppm representa la mejor alternativa frente a la condición libre de nanopartículas (desde el análisis de la altura y el AFT/pl); seguida por la combinación: híbrido Catedral, CuSO_4 Np a 3 ppm, la cual también manifiesta una mejor respuesta superadora desde el punto de vista de la altura alcanzada, en comparación con las plantas que no fueron sometidas a la aplicación foliar de CuNps.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Céccoli, G., Senn, M.E., Bustos, D., Ortega, L.I., Córdoba, A., Vegetti, A.C., Taleisnik, E. 2012. Genetic variability for responses to short- and long-term salt stress in vegetative sunflower plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde*. 175, 882-890.

Dosio G. A. A., Rey H., Lecoer J., Izquierdo N. G., Aguirrezábal L. A. N., Tardieu F., Turc O. 2003. A whole-plant analysis of the dynamics of expansion of individual leaves of two sunflower hybrids. *J. Exp. Bot.* 54: 2541-2552.

Kolenčík M., Ernst D., Komár M., Urík M., Šebesta M., Kratošová G. 2019. Effect of foliar spray application of zinc oxide nanoparticles on quantitative, nutritional, and physiological parameters of foxtail millet (*Setaria italica* L.) under field conditions. *Nanomaterials*, 9, 1559.

Olchowik, J., Bzdyk, R., Studnicki, M., Bederska-Błaszczuk, M., Urban, A., & Aleksandrowicz-Trzcińska, M. 2017. The Effect of Silver and Copper Nanoparticles on the Condition of English Oak (*Quercus robur* L.) Seedlings in a Container Nursery Experiment. *Forests*, 8(9), 310

Pakzad, K., Alinezhad, H., Nasrollahzadeh, M. 2019. Green synthesis of Ni@Fe₃O₄ and CuO nanoparticles using Euphorbia maculata extract as photocatalysts for the degradation of organic pollutants under UV-irradiation. *Ceramics International*, 45(14), 17173–17182.

Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E. R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., Juárez-Maldonado, A. 2019. Responses of Tomato Plants under Saline Stress to Foliar Application of Copper Nanoparticles. *Plants*. 8(6), 151.

Sangeetha, G., Rajeshwari, S., Venkatesh, R. 2011. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by aloe barbadensis miller leaf extract: Structure and optical properties *Materials Research. Bulletin*. 46, 2560-2566.

Torabian, S., Zahedi, M., Khoshgoftar, A. 2015. Effects of foliar spray of two kinds of zinc oxide on the growth and ion concentration of sunflower cultivars under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 39(2), 172–180.

Velsankar, K., Aswin Kumara, R.M., Preethi, R., Muthulakshmi, V., Sudhahar, S. 2020. Green synthesis of CuO nanoparticles via Allium sativum extract and its characterizations on antimicrobial, antioxidant, antilarvicidal activities. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), 104123

