

Producción de Especies Reactivas de Oxígeno en Plantas Elicitadas con Nanopartículas

Ricardo Hugo Lira-Saldivar¹, Bulmaro Méndez-Argüello¹ e Ileana Vera-Reyes^{1,2}

¹Departamento Plásticos en la Agricultura. Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA);

²Catedrática CONACYT-CIQA. Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25294.

Resumen

Los nanomateriales pueden provocar alteración en la fisiología, toxicidad e interferir en el metabolismo de las plantas a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO). Generalmente todos los factores ambientales generan estrés oxidativo en las plantas, lo que pueden dañar los componentes de las células e inactivar sus funciones. Las plantas continuamente producen ERO en sus diferentes organelos celulares y estas son continuamente removidas por un complejo sistema antioxidante, en el que participan enzimas, proteínas y otros metabolitos que permiten mantener la homeostasis celular. La producción de ERO se ha establecido como uno de los primeros eventos de señalización implicadas en la respuesta de la planta al estrés biótico. Por lo que, la investigación sobre la interacción de las nanopartículas (NPs) en la modulación del sistema de defensa antioxidante de las plantas puede ayudar a entender como participan en aspectos fisiológicos y bioquímicos relacionados con el crecimiento y desarrollo vegetal.

Palabras clave: Fitotoxicidad, especies reactivas de oxígeno, estrés oxidativo, nanopartículas.

Introducción

La nanotecnología (NT) es una ciencia que proporciona nanomateriales con nuevas propiedades fisicoquímicas, que tienen una gran cantidad de aplicaciones en agricultura. Ofrece la posibilidad de generar nanoproductos como fertilizantes, plaguicidas, sensores y

promotores de crecimiento de plantas. Sin embargo, las aplicaciones de estos nanomateriales puede provocar toxicidad e interferir en el metabolismo a través de la generación de especie ERO (Tang et al., 2016).

Generalmente todos los factores ambientales adversos generan estrés oxidativo en las plantas, lo que puede dañar los componentes de las células e inactivar sus funciones. Tanto las ERO y los radicales libres causan estrés oxidativo a través de la oxidación de los compuestos celulares. El estrés oxidativo desencadena reacciones de señalización y de defensa (Khan et al., 2016). En la agricultura han comenzado a investigarse las NPs porque originan cambios en la fisiología y bioquímica de las plantas, expresándose en ocasiones en mayor germinación, crecimiento y desarrollo (Demidchik, 2015).

Con la NT se podrá entender el comportamiento fisiológico y bioquímico de las plantas en respuesta a los factores bióticos y abióticos. Lo que podría permitir formular nanomateriales que puedan suministrarse en cantidades óptimas, sin provocar fitotoxicidad y alteración exageradas en el sistema de defensa de las plantas, los cuales serían muy útiles en la agricultura.

Importancia de la Producción de Especies Reactivas de oxígeno (ERO) en las plantas

En el metabolismo aeróbico de las plantas, al utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones se producen las ERO. El oxígeno al ser reducido se produce su forma activada singlete (O_2^1) o por la transferencia de uno, dos o tres electrones, formando el radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o el radical hidroxilo ($HO^{\bullet-}$), moléculas propagadas que se producen como consecuencia del metabolismo celular normal, y que en condiciones celulares estándar son rápidamente metabolizadas (Apel y Hirt, 2004).

Las plantas continuamente producen ERO en diferentes organelos celulares como: mitocondrias, cloroplastos, peroxisomas, retículo endoplásmico y en la membrana

plasmática (Karuppanapandian et al., 2011). Las ERO son continuamente removidas 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, diversos metabolitos secundarios y los limpiadores enzimáticos de ERO como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y las peroxidasas (POD).

La producción de ERO se ha establecido como uno de los primeros eventos de señalización implicadas en la respuesta de las plantas al estrés biótico (Fraire-Velázquez, 2011) y abiótico (Mizoi et al., 2012), En algunos casos, cuando el estrés excede el límite de tolerancia y la capacidad para adaptarse a él, puede ocurrir daño celular permanente o incluso la muerte de la planta (Figura 1).



Figura 1. Producción de ERO en las plantas de lechuga con la aplicación foliar de nanopesticidas de $\text{Cu}(\text{OH})_2$, (Adaptado de Zhao et al., 2016).

El reporte de Zhao et al. (2016), señala que en los últimos años ha habido una afluencia creciente de nanoplaguicidas en la agricultura. La comprensión de la interacción entre nanoplaguicidas y plantas comestibles es crucial para evaluar el impacto potencial de la NT en el ambiente y los agroecosistemas. En este trabajo se sometieron plantas de lechuga a dosis de $\text{NPsCu}(\text{OH})$ en concentraciones de $1050\text{-}2100 \text{ mg L}^{-1}$ a través de aplicación foliar durante un mes. Los datos generados indican que entre 97 a 99% del Cu aplicado se absorbió

en las hojas y sólo un pequeño porcentaje (1-3%) se traslocó a través del tejidos del floema a la raíz.

Estudios de metabolómica mediante un análisis multivariado revelaron que los nanoplaguicidas alteraron los niveles de metabolitos en las hojas de lechuga. También el ciclo tricarboxílico (TCA) y una serie de vías biológicas relacionadas con el aminoácido se alteraron. Algunos niveles de antioxidantes como el ácido cis-cafeico, ácido clorogénico, ácido 3,4-dihidroxicinámico, ácido dehidroascórbico, se redujeron significativamente en comparación con el control, lo que indica que el estrés oxidativo y una respuesta de defensa se produjeron. Asimismo, los niveles de nicotianamina, un quelante de cobre, aumentó entre 12 a 27 veces en comparación con el control. Esto puede representar un mecanismo de desintoxicación.

Implicaciones de los nanomateriales en la producción de ERO en las plantas

Los nanomateriales son considerados un factor de estrés en las plantas ya que existe la posibilidad de que pueden remodelar la estructura y constitución de la pared y membrana celular (Liu et al., 2013). Diversas investigaciones han demostrado que las NPs de carbón o metálicas son capaces de producir estrés en la planta, generando un exceso de ERO que puede afectar a proteínas, lípidos, carbohidratos y al ADN. Las NPs, especialmente en altas concentraciones alteran la eficiencia fotosintética, la fluorescencia fotoquímica y el rendimiento cuántico en las plantas, debido a las interacciones de estas con los fotosistemas, ya que diversos estudios demostraron que las clorofilas transfieren la energía a las NPs (Olejnik et al., 2013; Rico et al., 2015).

A su vez, la perturbación en la actividad fotosintética se traduce en estrés oxidativo en las plantas, el cual es provocado por las NPs, Se ha investigado a través de técnicas que miden producción de ERO como H_2O_2 (Figura 2), la activación de los mecanismos de defensa enzimáticos, la peroxidación lipídica y pérdidas de electrolitos, entre las más importantes. Sin

embargo, aún no se entiende completamente cómo las propiedades químicas de las NPs inducen la producción de ERO y el daño de membrana en las plantas. Algunas NPs metálicas como Cu, Ni, Zn, TiO₂ y CeO₂, tiene la capacidad de producir ERO vía reacciones de Fenton u otras, debido a la capacidad de alternar entre estados de oxidación (Fenoglio et al., 2009; McLaren et al., 2009; Perreault et al., 2010; Boghossian et al., 2013).

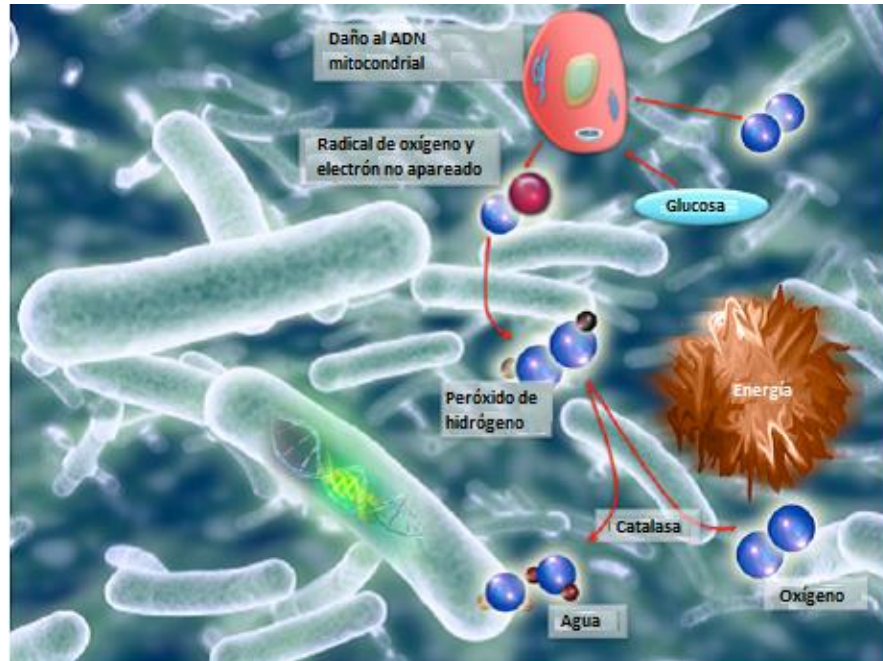


Figura 2. Producción de ROS por filtración de O₂^{•-} de la cadena respiratoria mitocondrial. Posteriormente son formadas ERO y (H₂O₂ y •OH), así como los sistemas de defensa Catalasa y SOD que pueden ser inducidos para mitigar el daño ocasionado y prevenir el estrés oxidativo excesivo (Adaptado de Vatansever et al., 2013).

Algunas NPs tienen efectos contrarios, ya que se ha reportado que pueden disminuir las concentraciones de H₂O₂ intracelular y la peroxidación lipídica, los investigadores hipotetizan que las NPs incrementan la eficiencia de las reacciones de oxidación reducción (Redox), al actuar como centro de retrasmisión de electrones (Mallick et al., 2006). También se ha visto que las NPs tienen capacidad antioxidante y sus mecanismos imitan la actividad de enzimas involucradas en los sistemas de defensa.

Los estudios de Wei y Wang (2013) demostraron que NPs como CeO_2 , Fe_3O_4 y Co_3O_4 realizan reacciones que imitan la actividad de la catalasa; al igual que las NPs de CeO_2 , Fe_3O_4 , Co_3O_4 , MnO_2 , CuO y Au , exhibieron actividad de peroxidasa. Por su parte NP_{CeO_2} y fullerenos demostraron tener la capacidad de llevar a cabo la reacción de la superóxido dismutasa. A pesar de los avances tecnológicos resulta difícil poder comprobar la capacidad antioxidante de las NPs dentro de la planta.

La fitotoxicidad que pueden tener las NPs en base a las diferencias en actividades enzimáticas, no nos dan la certeza de que los cambios observados sean debidos a las interacciones enzimas y a las NPs. Los estudios muestran que la fitotoxicidad causada por NPs generan un comportamiento impredecible e irregular sobre el estrés oxidativo, el cual depende del tipo, concentración, propiedades y medios de exposición de las NPs (Lei et al., 2008; Foltete et al., 2011; Song et al., 2012). Por lo tanto, el efecto de las NPs en la modulación del sistema de defensa antioxidante en las plantas no está claro o totalmente elucidado.

Estrés oxidativo de las plantas con la aplicación de NPs

En el reporte de Wang (2012) se detectó una acumulación de H_2O_2 en las hojas de maíz expuestas a la aplicación de NPs CeO_2 , también se observó un incremento en la actividad de la catalasa y ascorbato peroxidasa. En plantas de tomate provocó la inhibición de la actividad enzimática de la catalasa cuando aplicaron NPs CoFeO_4 , lo que podría estar relacionado con un incremento de las ERO en los tejidos de las plantas (López-Moreno et al., 2016).

El estrés oxidativo en las plantas puede interferir con las reacciones bioquímicas y reducir la fotosíntesis e intercambio gaseoso por la alta producción de ERO (Adrees et al., 2015). El exceso de NPs metálicas causa una reducción significativa en el contenido de la clorofila total de plantas (Rao et al., 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 ppm de NPs Cu, pero si se redujo significativamente a los 20 días de crecimiento de las plantas de avena.

Altas Aplicaciones de NPs provocan fitotoxicidad en las plantas e inducen estrés oxidativo, daño en el ADN y muerte celular, debido a alteraciones estructurales de la célula (Ghosh et al., 2016). En las plantas, las ERO son continuamente producidas en las mitocondrias, cloroplastos, y peroxisomas por procesos metabólicos aeróbicos. Aunque las células de plantas están equipadas con mecanismos para secuestrar las ERO, el equilibrio puede ser perturbado bajo descarga oxidativa provocado por estrés abiótico, además la peroxidación lipídica se considera como un indicador de la sobreproducción de ERO (Majumdar et al., 2014).

La fitotoxicidad de las NPs puede ser causada por un exceso endógeno en la producción de ERO; se han realizado experimentos para visualizar la producción de peróxido de hidrogeno en hojas (Méndez-Argüello et al., 2016). En la Figura 3 se muestra la producción de H_2O_2 debido a la aplicación de NPsZnO después de 24 horas de haber aplicado las NPs. Todos los tratamientos mostraron producción de ERO (Figura 2B, 2C y 2D). Sin embargo, la hojas con mayor deposición de H_2O_2 fueron las tratadas con NPsZnO + Ag al 2.5%. Posterior a este tiempo fue disminuyendo, por lo se asevera una activación del sistema antioxidante de las plantas de *C. annuum*.

Mecanismos de interacción de las NPs con las plantas

Los mecanismos de interacción entre las NPs y las plantas pueden ser químicos o físicos. Las interacciones químicas implican la producción de ERO, la perturbación del transporte de iones de la membrana celular, daño oxidativo y peroxidación de lípidos. Después de la entrada en las células vegetales, las NPs se comportan como iones metálicos y reaccionan con los grupos sulfhidrilo y carboxilo y alteran la actividad de las proteínas.

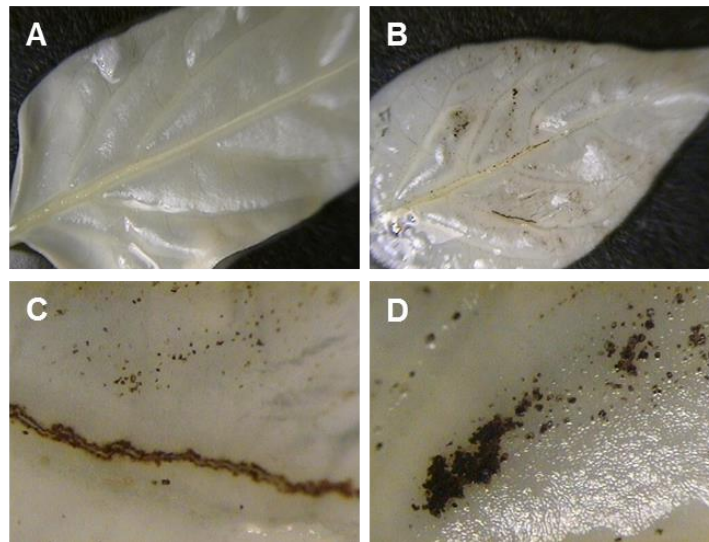


Figura 3. Tinción con DAB para detectar la formación de H₂O₂ in situ en plantas de *Capsicum annuum* sometidas a la aplicación de nanopartículas de ZnO. A) Hojas de plantas control; B) Hojas de plantas tratadas con NPsZnO; C) Hojas de plantas tratadas con NPsZnO + Ag al 1.25 %; D) Hojas de plantas tratadas con NPsZnO + Ag al 2.5 %.

Los nanomateriales ejercen toxicidad indirecta que afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas y en algunos casos se genera deficiencia de nutrientes. Las NPs enfrentan diferentes cambios (sedimentación, disolución, aglomeración, etc.), durante el período de preparación de la solución y la aplicación a las plantas. Debido a la mayor área superficial, adsorben fácilmente moléculas orgánicas e iones inorgánicos del medio nutritivo resultando en síntomas de toxicidad incluyendo clorosis y marchitamiento. Por otra parte, durante la interacción de las NPs con las plantas, los ácidos orgánicos exudados por las raíces disminuye 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. Recientemente Mirzajani et al. (2014), realizaron un estudio proteómico para entender los efectos de la toxicidad de las NPsAg en plantas de arroz (*Oryza sativa*). El estudio reveló que las NPs generan estrés oxidativo, alteran la regulación del Ca²⁺ y tienen efecto en la

señalización, transcripción y degradación de proteínas en las plantas. El incremento de la producción de las proteínas está relacionada con la defensa que implica la producción acelerada de ERO.

Un estudio proteómico de raíces de *Eruca sativa* 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 de fertilizantes y pesticidas en exceso. Las NPs por su tamaño pueden causar acumulación y fitotoxicidad e inducir daños al nivel celular y molecular. Lin y Xing (2008) señalan que la aplicación de NPsZnO en zacate rye grass (*Lolium perenne*) redujo significativamente la biomasa; las puntas de las raíces se encogieron y las células corticales y epidermales se colapsaron, indicando que las NPs causaron daños.

Aunque su modo de acción no está totalmente claro, ha sido destacado que provocan ruptura de membranas, oxidación de proteínas, genotoxicidad y formación de especies reactivas de oxígeno (ERO), lo cual incrementa el estrés oxidativo provocado por algunos iones como los de plata y que afectan a la síntesis de proteínas, ADN o ARN (Golinska et al., 2014).

Dutta et al., (2012) han señalado que las NPs y sus iones (por ejemplo, cobre, plata y zinc) pueden producir radicales libres, lo que resulta en la inducción de estrés oxidativo reflejándose en alta producción de ERO. Las ERO pueden dañar irreversiblemente las membranas celulares, el ADN y las mitocondrias, provocando la muerte de las células. Se ha determinado que las NPs de plata se pueden adherir a la membrana celular, alterando la permeabilidad y 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).

Sin embargo, en concentraciones bajas las NPs poseen un efecto positivo en la germinación de semillas y en la promoción del crecimiento en plantas. Sharma et al. (2012), reportan que las NPsAg promueven el crecimiento de plántulas. Además estas NPs pueden

mejorar la eficiencia de intercambio de electrones a nivel celular en las plantas, lo que podría reducir la formación de especies reactivas de oxígeno (Dimkpa et al., 2015).

Salama (2012), experimentó con plantas de frijol y maíz, incrementan la concentración de carbohidratos y contenido de proteína en las plantas. Otras NPs como las de óxido de titanio (NP_{TiO2}) aplicadas al follaje, causan un incremento en la actividad de varias enzimas y promueven 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) revelan que las NPs de cerio son extremadamente tóxicas en el conjunto de ensayos realizados, habiendo determinado que en pruebas de germinación de algunas semillas mostró un efecto perjudicial (fitotoxicidad) en la germinación. Reportes previos muestran que la fitotoxicidad causada por algunas NPs genera un comportamiento impredecible e irregular sobre el estrés oxidativo, que a su vez depende del tipo, concentración, propiedades y medios de exposición de las NPs (Foltete et al., 2011).

Conclusiones

La producción de ERO se ha establecido como uno de los primeros eventos de señalización implicadas en la respuesta de la planta al estrés biótico. Por lo que, la investigación sobre, fitotoxicidad e interacción de las NPs en la modulación del sistema de defensa antioxidante puede ayudar a entender como participan en el crecimiento y desarrollo vegetativo.

Literatura citada.

- Apel, K. y Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55:373-399.
- Boghossian A.A., Sen F. y Gibbons, B.M. (2013). Application of nanoparticle antioxidants to enable hyperstable chloroplasts for solar energy harvesting. *Adv Energy Mater* 3:881–893.

- Boghossian, A.A., Sen, F., Gibbons, B.M., Sen, S., Faltermeier, S.M., Giraldo, J.P. y Strano, M.S. (2013). Application of nanoparticle antioxidants to enable hyperstable chloroplasts for solar energy harvesting. *Adv. Energy Mater* 3:881-893.
- Demidchik, V. (2015). Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109: 212-228.
- Dutta, R.K., Bhavani, P. Mahesh, K.N., Gangishetty, A.V. y Reddy, R. (2012). Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*. 94:143-150.
- Fenoglio, I., Greco, G., Livraghi, S. y Fubini, B. (2009). Non-UV-induced radical reactions at the surface of TiO₂ nanoparticles that may trigger toxic responses. *Chem. Eur. J.* 15:4614-4621.
- Foltete, A.S., Masfaraud, J.F. y Bigorgne, E. (2011) Environmental impact of sunscreen nanomaterials: ecotoxicity and genotoxicity of altered TiO₂ nanocomposites on *Vicia faba*. *Environ Pollut*, 159:2515–2522.
- Fraire-Velázquez, S. y Balderas-Hernández, V.E. (2013). Abiotic stress in plants and metabolic responses". *INTECH*. 10:5772-54859.
- 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.
- Golinska, P., Wypij, M., Ingle, P.A., Gupta, I., Dahm, H. y Rai, M. (2014). Biogenic synthesis of metal nanoparticles from actinomycetes: biomedical applications and cytotoxicity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98:8083-8097.
- Hajipour, M.J., Fromm, K.M., Ashkarran, A.A., Jimenez, A.D., Ruiz, L.I., Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W.J. y Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol.* 30:499-511.
- Hossain, Z., Mustafa, G. y Komatsu, S. (2015). Plant Responses to Nanoparticle Stress. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 26644-26653.
- Karuppanapandian, T., Moon, J.C., Kim, C., Manoharan, K. y Kim, W. (2011). Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms". *Aust. J. Crop Sci.* 5:709-725.
- Khan, M.N., Mobin, M., Abbas, Z. K., AlMutairi, K.A. y Siddiqui, Z.H. (2016). Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiology and Biochemistry*.
- Lei, Z., Mingyu, S., Xiao, W., Chao, L., Chunxiang, Q., Liang, C. y Fashui, H. (2008). Antioxidant stress is promoted by nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-B radiation. *Biol. Trace Elem. Res.* 121:69-79.
- 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. *Environ. Sci. Technol.* 47:7490-7498.
- López-Moreno, M. L., Avilés, L. L., Pérez, N. G., Irizarry, B. Á., Perales, O., Cedeno-Mattei, Y. y Román, F. (2016). Effect of cobalt ferrite (CoFe₂O₄) nanoparticles on the growth and development of *Lycopersicon lycopersicum* (tomato plants). *Science of the Total Environment*, 550, 45-52.

- Luo, D. (2005). Nanotechnology and DNA delivery. *MRS bulletin*. 30:654-658.
- Lin, D. y Xing, B. 2008. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* 42: 5580-5585.
- Adrees, M., Ali, S., Iqbal, M., Bharwana, S. A., 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.
- Majumdar, S., Peralta-Videa, J. R., Bandyopadhyay, S., Castillo-Michel, H., Hernandez-Viezcas, J. A., Sahi, S. y Gardea-Torresdey, J.L. (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 Scurrrell, M. 2006. Silver nanoparticle catalysed redox reaction: an electron relay effect. *Mater. Chem. Phys.* 97:283-287.
- Mclaren A, Valdes-Solis T. y Li G. (2009) Shape and size effects of ZnO nanocrystals on photocatalytic activity. *J. Am. Chem. Soc.* 131:12540–12541.
- Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L.A., Puente-Urbina B.A. y Lira-Saldivar, R.H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova Scientia*, 8(2): 140-156.
- Mclaren, A., Valdes, S.T., Li, G. y Tsang, S.C. 2009. Shape and size effects of ZnO nanocrystals on photocatalytic activity. *J. Am. Chem. Soc.* 131:12540-12541.
- Mirzajani, F., Askari, H., Hamzelou, S., Schober, Y., Römpp, A., Ghassempour, A. y Spengler, B. (2014). Proteomics study of silver nanoparticles toxicity on *Oryza sativa* L. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 108: 335–339.
- Mizoi, J., Shinozaki, K. y Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012). AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim. Biophys. Acta.* 1819:86-96.
- Olejnik, M., Krajnik, B., Kowalska, D., Twardowska, M., Czechowski, N., Hofmann, E. y Mackowski, S. (2013). Imaging of fluorescence enhancement in photosynthetic complexes coupled to silver nanowires. *Appl. Phys. Lett.* 102:083703-083707.
- Perreault, F., Oukarroum, A. y Pirastru, L. (2010) Evaluation of copper oxide nanoparticles toxicity using chlorophyll a fluorescence imaging in *Lemna gibba*. *J Bot.* doi:10.1155/2010/763142.
- Rico, C.M., Peralta-Videa, J.R. y Gardea-Torresdey, J.L. (2015). Chemistry, biochemistry of nanoparticles, and their role in antioxidant defense system in plants. In *Nanotechnology and Plant Sciences* (pp. 1-17). Springer International Publishing.
- Rao, S. y Shekhawat, G.S. (2014). Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*, *J. Environ. Chem. Eng.* 2:105–114.
- Shaw, A.K., Ghosh, S., Kalaji, H.M., Bosa, K., Brestic, M., Zivcak M., Hossain, M. (2014). Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of Syrian barley (*Hordeum vulgare* L.), *Environ.Exp. Bot.* 102:37–47.
- Song, G., Gao, Y., Wu, H., Hou, W., Zhang, C. y Ma, H. (2012). Physiological effect of anatase TiO₂ nanoparticles on *Lemna minor*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(9), 2147-2152.

- 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.
- Vannini, C., Domingo, G., Onelli, E., Prinsi, B., Marsoni, M., Espen, L. & Bracale, M. (2013). Morphological and proteomic responses of *Eruca sativa* exposed to silver nanoparticles or silver nitrate. *PLoS One*, 8(7), 1-8.
- Vatansever, F., de Melo, W.C., Avci, P., Vecchio, D., Sadasivam, M., Gupta, A. y Tegos, G.P. (2013). Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species–bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond. *FEMS microbiology reviews*, 37(6), 955-989.
- Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., White, J.C., Xing, B., (2012). Xylem and phloem based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environ. Sci. Technol.* 46, 4434–4441.
- Wei, H. y Wang, E. (2013). Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chem. Soc. Rev.* 42: 6060-6093.
- Zhao, L., Ortiz, C., Adeleye, A.S., Hu, Q., Zhou, H., Huang, Y. y Keller, A.A. (2016). Metabolomics to Detect Response of Lettuce (*Lactuca sativa*) to Cu(OH)₂ Nanopesticides: Oxidative Stress Response and Detoxification Mechanisms. *Environmental Science & Technology*. 50: 9697-9707.