

Capítulo 9

NANO-BIOTECNOLOGÍA Y SUS POTENCIALES APLICACIONES EN AGRICULTURA

Pedro Jesús Rocha Salavarría*

Área de Biotecnología y Bioseguridad, Instituto Interamericano de Cooperación para la
Agricultura (IICA), Edificio IICA, San José, Costa Rica

CONTENIDO

9.1.	Introducción	225
9.2.	Nanotecnología: La disciplina de lo infinitesimalmente pequeño	225
9.3.	Nano-biotecnología	227
	<i>9.3.1. Sistemas de entrega de biocidas</i>	
	<i>9.3.2. Sistemas de entrega de fertilizantes</i>	
	<i>9.3.3. Introducción de ácidos nucleicos</i>	
	<i>9.3.4. Nano-sensores</i>	
	<i>9.3.5. Secuenciación de genomas</i>	
	<i>9.3.6. Remediación</i>	
9.4.	Bioseguridad y nano-biotecnología	236
9.5.	Educación y comunicación de la nano-biotecnología	237
9.6.	Nano-biotecnología en América Latina	237
9.7.	Consideraciones finales	238
	Referencias	239

* pedro.rocha@iica.int

9.1. Introducción

Existe una convergencia tecnológica que trabaja a escala de lo infinitesimalmente pequeño, la nanotecnología, disciplina materializada mediante la introducción de procesos que han permitido el desarrollo de nuevos materiales basados en elementos conocidos desde hace mucho tiempo, pero que a escala nanométrica exhiben propiedades diferentes.

La nanotecnología *per se* es un ejemplo de convergencia tecnológica donde se integran conocimientos de diferentes disciplinas, alcanzando un grado de control y de precisión que está en el límite de la constitución de la materia. La nanotecnología se ha asociado con la biotecnología y las dos, como convergencias tecnológicas que son, han generado la nano-biotecnología, otra convergencia que se convierte en disciplina y que está siendo estudiada, entendida y aplicada en los sectores médico (reparación celular, mejora de funcionalidad de implantes, cirugía no invasiva, diagnóstico, etc.¹), farmacéutico (mejora de la estabilidad y biodisponibilidad –dosis y tiempos- de medicamentos²), ambiental (detección de contaminantes, purificación de agua, generación de energía limpia y manejo de gases de efecto invernadero³), agrícola y de industria de alimentos (procesamiento, distribución, empaque y alimentos funcionales⁴), entre otros.

En la actualidad, existen productos alimenticios y nutricionales que contienen nanoaditivos, por ejemplo hierro en bebidas nutricionales; micelas que transportan vitaminas; minerales y fitoquímicos en aceites y óxido de zinc en los cereales⁵. A nivel industrial, nanopartículas hechas de ácido bórico aumentan la eficacia los lubricantes del aceite para motores⁶. Existen productos de higiene, tipo champú, crema dental, etc., que se basan en nanopartículas (NPs). En total, más de 1300 productos de la nanotecnología se comercializan actualmente⁷; sin embargo, de todos ellos solo unos pocos (por ejemplo, NPs para modificación genética de plantas y algunos productos para protección vegetal, en particular fungicidas e insecticidas) han sido empleados comercialmente para beneficio del sector agrícola⁸. Así, el incipiente desarrollo de la nanotecnología aplicada a la agricultura contrasta con las ventajas potenciales que, como se verá más adelante, podrían traer a los productores agrícolas en términos de optimización de los recursos productivos, aumento de la competitividad en los mercados y disminución del impacto negativo sobre el ambiente⁴.

9.2. Nanotecnología: la disciplina de lo infinitesimalmente pequeño

La nanotecnología es la disciplina que cobija a aquellos procesos que permiten manipular, controlar y utilizar racionalmente la nanoescala, una categoría dimensional que tiene su materialización en las NPs que son corpúsculos cuyos agregados forman estructuras que se encuentran en el orden de magnitud del nanómetro (nm, la milmillonésima parte del metro) con dimensiones que van, por lo general, entre 1 y 100 nm⁹ y que por su pequeño tamaño parecieran escapar a las leyes de la física clásica. Así, la nanotecnología se convierte en el arte de construir a nivel atómico y molecular.

Existen varias definiciones de nanotecnología y de nanomaterial¹⁰. Sin embargo, aunque las definiciones sean limitadas y cuando de desarrollo de productos se trata, las mismas pueden diferir en función del producto específico generado. A manera de ejemplo, en 2011, la Unión Europea (2011/6956/EU) definió nanomaterial como “un material natural, accidental

o manufacturado que contenga partículas sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50 % o más de las partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1-100 nm”.

El grosor de una hoja de papel es de cerca de 100 mil nm, un cabello humano tiene entre 80 mil y 100 mil nm de diámetro, una hebra de ADN tiene 2,5 nm de diámetro, el diámetro de un átomo de oro es de un tercio de nm, 1 nm es lo que las uñas de las manos crecen en un segundo. Si el diámetro de una canica fuera de 1 nm, el diámetro de la tierra sería de cerca de 1 m (según <http://nano.gov/nanotech-101/what/nano-size>). Estas equivalencias aproximadas permiten apreciar la magnitud infinitesimalmente pequeña de la nanoescala (figura 9.1).

Los materiales de los que están hechas las NPs incluyen óxidos metálicos, cerámicas, silicatos, materiales magnéticos, carbón, lípidos, polímeros, dendrímeros, emulsiones, puntos cuánticos semiconductores, etc. Adicionalmente, es de anotar que los materiales que se encuentran en forma nanométrica se comportan de manera distinta comparado con el mismo material cuando se presentan a escala de mayor tamaño, micro o macro. Por ejemplo, el oro es inerte a escala macro, pero altamente reactivo a escala nano; el cobre es dúctil y maleable, pero rígido en la nanoescala; el silicio es aislante pero conductor cuando es nanopartícula. Dependiendo de los materiales, hay dos propiedades importantes de las NPs con fines de utilización: la mayor reactividad química asociada a su mayor área superficial

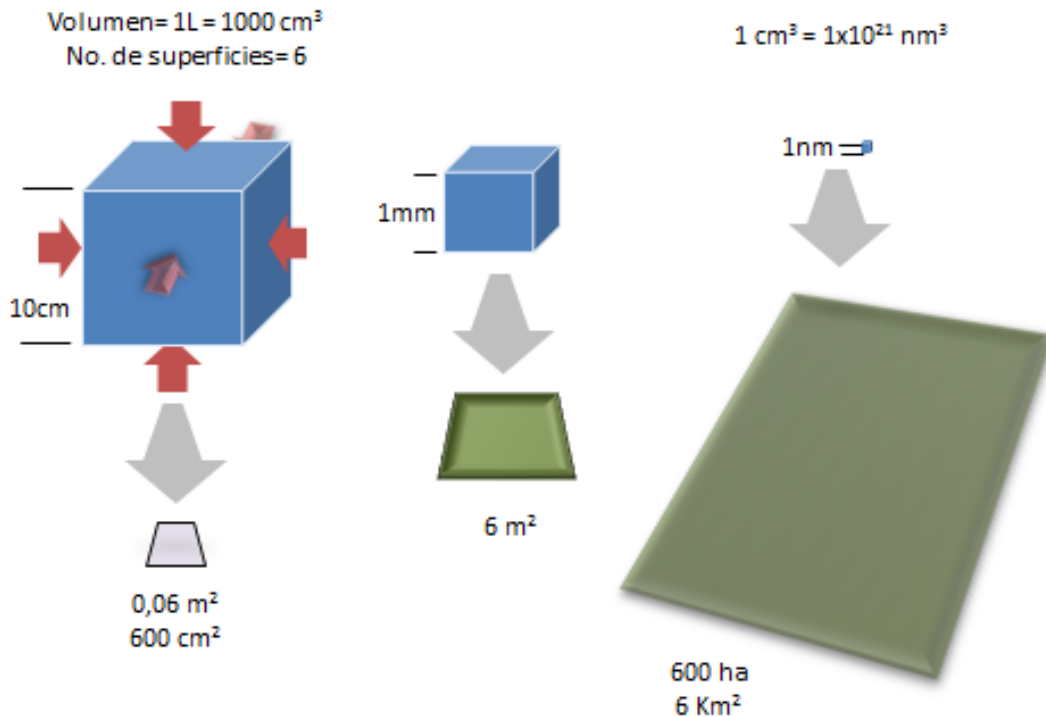


Fig. 9.1: Representación esquemática de la comparación de escalas. A manera de ejemplo, si un litro (1000 cm^3) de un compuesto estuviera formado por partículas cúbicas de 1 mm de lado se podría cubrir un área de 6 m^2 con tal compuesto. Sin embargo, si estuviera hecho de NPs cúbicas de 1 nm de lado, se podría cubrir, en teoría, un área de 600 ha (o 6 Km^2).

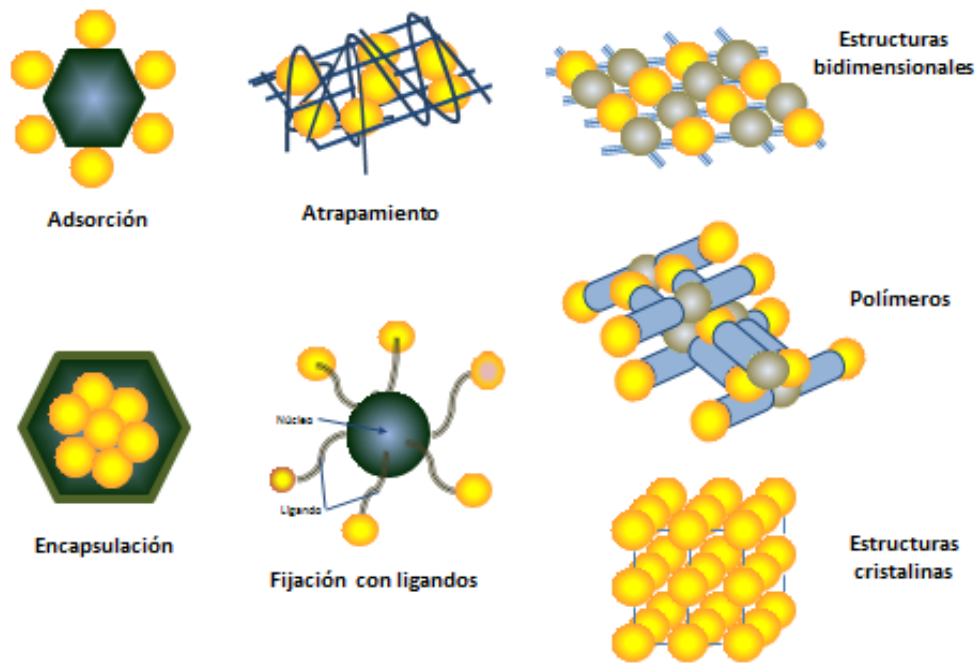


Fig. 9.2: Mecanismos para la utilización y algunas formas de ensamblaje de las NPs de acuerdo con Ghormade *et al.*¹² y Tan *et al.*¹³.

(figura 9.1) y la manifestación de efectos cuánticos evidenciados, por ejemplo, en el comportamiento diferencial a distintos tipos de luz¹¹.

Al ser tan pequeñas, las NPs tienen diversos mecanismos de manipulación¹² (figura 9.2), por ejemplo la adsorción o “pegado de materiales”, la fijación con ligandos o “enlazado”, el encapsulamiento o “embebimiento” y el atrapamiento o “enredo de estructuras” y múltiples formas de ensamblaje¹³.

Es evidente que la nanoescala complementa a la microescala, que durante varios siglos hemos estado acostumbrados a utilizar. Lo interesante es que así como la escala microscópica se dio a conocer a la humanidad a finales del siglo XVI con la invención del microscopio, la nanoescala está revelándose como un mundo novedoso con un enorme potencial de aplicación.

9.3. Nano-biotecnología

Según la Convención de Diversidad Biológica (ONU 1992), la biotecnología es “toda aplicación que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos”. En consecuencia, múltiples son las herramientas de la biotecnología como se ha reiterado en previos reportes^{14,15}. Así, la nano-biotecnología es la convergencia de la biotecnología con la nanotecnología, o dicho de otra manera, las tecnologías que hacen posible el uso de la nanoescala en los procesos biotecnológicos, con lo cual se incrementan las aplicaciones y productos de base biológica.

Tabla 9.1: Relación de la nano-biotecnología con los objetos de estudio de la biología.

Escala	Objetos de estudio	Disciplinas científicas	Técnicas biotecnológicas	Aplicaciones de la nano-biotecnología
Mega	Ecosistemas	Ecología		Control biológico.
	Poblaciones	Genética	Marcadores moleculares	Nanoingredientes para agricultura. Control biológico.
Macro	Individuos	Genética, Fisiología	Control biológico	Nanoingredientes para agricultura. Control biológico
	Órganos	Anatomía, Fisiología	Cultivo <i>in vitro</i>	Control biológico Control de calidad Fitoprotección
Meso	Tejidos	Anatomía, Fisiología	Cultivo <i>in vitro</i>	
Micro	Células	Citología, Biología celular	Cultivo <i>in vitro</i> Transgénesis Fermentación Microscopía de luz	Transformación genética más rápida, económica y precisa. Biopelículas.
	Organelos	Citología, Biología celular	Transgénesis Microscopía electrónica	Generación de energía, degradación de compuestos
Nano	Polímeros (carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos, proteínas)	Bioquímica, Biología molecular	Secuenciación Genómica Proteómica Bioinformática	Microscopía de fuerza atómica. Nuevas estructuras híbridas sintéticas-orgánicas.
	Moléculas	Físicoquímica	Metabolómica Bioinformática	Generación de nanomotores.
	Átomos	Físicoquímica		Generación de nuevos materiales y nuevas funciones.
	Partículas subatómicas (protones, neutrones, electrones, gluones, muones, etc.)	Física		Soporte de investigación subatómica.

La nano-biotecnología se desarrolla a través de diversas disciplinas, técnicas y materiales (tabla 9.1) con el fin de generar nuevos productos y servicios que potencien la eficiencia de los actuales. De este modo, la nano-biotecnología es una tecnología transversal que confiere mayores posibilidades a las ya de por sí eficaces herramientas biotecnológicas.

Pareciera que la biología ha encontrado su frontera en la nanoescala, pues se ha sugerido que el límite inferior para el tamaño de una célula es de unos 140 nm, con menos de eso no hay espacio para el ADN ni para las proteínas mínimas necesarias para que el sistema biológico funcione¹⁶. Lo interesante es que gracias al conocimiento de la nanoescala dicho límite puede ser estudiado y, con la nanotecnología, utilizado.

La nano-biotecnología tiene el potencial de crear nuevas aplicaciones biológicas o de recrear procesos naturales ya conocidos (por ejemplo, la fotosíntesis) de otra manera. En la naturaleza, la fotosíntesis es un proceso de conversión de energía solar a química el cual se lleva a cabo mediante una serie de reacciones de transferencia de electrones que es inducida por la luz en nanoarquitecturas que contienen grupos de proteínas, metales,

biocatalizadores de óxido-reducción y complejos que “cosechan” la luz. En la actualidad, desde el punto de vista tecnológico, uno de los retos más grandes de la nano-biotecnología para contribuir a la solución del problema global de energía¹⁷ es el de hacer fotosíntesis artificial en un ensamblaje nano-biocatalizador que “reconstruya” fotosensores (vg. clorofila a y carotenoides), mediadores de electrones (vg. plastoquinona, plastocianina y ferredoxina) y proteínas catalíticas o agrupaciones metálicas en las cuales se pueda almacenar en forma de energía química (NADH o ATP) la abundante energía solar¹⁸. Los retos son enormes y aunque se han presentado reportes de fotosíntesis artificial en arreglos de nanotubos de TiO₂¹⁹, aún no se han generado sistemas que reproduzcan el proceso fotosintético completo ni con la misma eficiencia.

En agricultura, la nano-biotecnología tiene múltiples aplicaciones^{4,12}. Por ejemplo, en la generación u optimización de los sistemas de entrega de biocidas (herbicidas, insecticidas, etc.), fertilizantes y material genético a sitios específicos, en la secuenciación de genomas, en el uso de nanosensores, en la bio-remediación (purificación de agua), en retención de suelos y agua, en generación de nanomateriales (NMs) de plantas, en identificación (etiquetado y código de barras), etc. A continuación se hará una breve descripción de algunas de tales aplicaciones.

9.3.1. Sistemas de entrega de biocidas

Bajo la palabra “biocidas” se incluyen aquí todas aquellas moléculas de origen biológico y sintético que tienen como característica común el “controlar a” determinados organismos vivos. En consecuencia, en este texto se incluyen dentro de los biocidas a los herbicidas, fungicidas, insecticidas, nematocidas, acaricidas, etc. Mediante nano-biotecnología se abre la posibilidad de hacer la liberación controlada y en sitios específicos de cantidades, necesarias y suficientes, de los principios activos de los biocidas en un período determinado para obtener la máxima eficacia biológica y minimizar los efectos nocivos²⁰. La velocidad de la liberación de los biocidas dependerá de las características del nanomaterial empleado, los ingredientes o el tipo de unión y las condiciones medioambientales.

Los beneficios de las formulaciones basadas en NMs se relacionan con la mejora de su eficacia debido a la mayor área de superficie, mayor solubilidad, inducción de actividad sistémica por el pequeño tamaño de partícula, mayor movilidad y menor toxicidad que las formulaciones convencionales¹². Sin embargo, varios son los retos a superar antes de que la nano-biotecnología se emplee de manera rutinaria en la liberación de biocidas. Algunas de las barreras incluyen las múltiples perturbaciones medioambientales a las que se encuentran sometidos los nanosistemas¹²; las grandes áreas a cubrir con los nanomateriales los cuales involucran bajos volúmenes y aplicaciones costosas en comparación con los métodos convencionales que asperjan fácilmente químicos o biológicos en grandes volúmenes; el conocimiento detallado del ciclo de vida de los patógenos o plagas para usar de manera muy precisa las NPs. Por ejemplo, los fitoquímicos pueden presentar problemas de estabilidad y costo. En el caso de los aceites esenciales su inestabilidad química en presencia de aire, luz, humedad y altas temperaturas pueden causar rápida evaporación y degradación de sus compuestos activos. Sin embargo, es posible incorporar aceites esenciales en formulaciones de liberación controlada de NPs, lo cual previene la evaporación y la degradación, incrementa la estabilidad y reduce la aplicación (o dosis) mínima efectiva.

Algunas aplicaciones concretas de la nano-biotecnología en la entrega de pesticidas químicos incluyen la protección de avermectina de la luz UV con NPs de sílica porosa²¹, la liberación controlada de fungicidas tebuconazol y c lorotalonil con NPs de PVP para preservación de madera²², NPs de plata como ingrediente activo de fungicidas²³, NPs de TiO₂ como aditivo (fotocatalizador) en pesticidas como el imidacloprid²⁴, nanodiscos (bicapa fosfolipídica y molécula biocida interna) para la liberación del antimicótico amphotericin B protegiéndolo de la degradación por agentes externos (pH o luz) y mejorando su solubilización²⁵ y el uso de nanoarcillas para la prevención de daño por UV²⁶ y evitar la re-cristalización.

Dentro de los ejemplos¹² de entrega de biocidas de origen vegetal está el uso de NPs lipídicas (200 nm) con ácidos grasos de cadena larga y emulsificantes que protegen de la degradación al acetato de tocoferol y vitamina E, la incorporación de aceite esencial de *Artemisia arborescens* en NPs lipídicas que reducen la evaporación y mejoran el control de plagas de cítricos, la utilización de aceite esencial de ajo, cargado en NPs poliméricas cubiertas con PEG que sirven como insecticida para control de *Tribolium castaneum*, la nanosílica amorfa de diversas fuentes ha sido probada como biopesticida (considerada como segura por OMS). Bacterias, hongos y virus pueden funcionar como agentes de control. Las ventajas de utilizar microorganismos y sus productos a través de la nano-biotecnología están en que los mico-pesticidas de contacto no necesitan ser ingeridos y que las esporas pueden ser recubiertas con NPs para germinación retardada por hidratación.

El conocimiento tradicional asociado con prácticas biotecnológicas de la pequeña agricultura tiene un espacio importante para la investigación y el desarrollo de la nano-biotecnología y se puede constituir en una manera de acercarse a esa bioeconomía basada en conocimiento^{4,8,27}.

Ciertamente existen beneficios potenciales de la nano-biotecnología para la protección vegetal⁴, sin embargo, se presentan algunas limitantes. Por ejemplo, aún no hay suficientes estudios sobre la potencial toxicidad de algunos NMs sobre plantas, animales y el medio ambiente. Eventualmente, si se presenta acumulación de NMs en tejidos vegetales y animales se podría terminar con dichas NPs en la cadena alimenticia y de ser así habría que garantizar la seguridad de tal alimento a los consumidores.

Por ejemplo, recientemente se ha reportado toxicidad del SiO₂ en plantas de algodón-Bt reflejada en disminución de la altura de la planta, reducción de la biomasa radical y aérea, afectación de los contenidos de Cu y Mg de las hojas y Na en las raíces²⁸. Además, se encontró transporte de las NPs de SiO₂ desde las raíces vía xilema. Claramente, es necesario estudiar el efecto del SiO₂ en cultivos alimenticios para determinar si el mismo fenómeno de traslocación observado en algodón se presenta en ellos. De este modo, se podrían detectar potenciales riesgos de las partículas de SiO₂ en la cadena alimenticia y eventualmente superar tal barrera mediante el uso de materiales no tóxicos (almidón, quitina o nano-arcillas).

Otra limitante de esta tecnología para la agricultura está relacionada con los grandes volúmenes de nanoproductos necesarios y el costo de los mismos para poder emplearlos en las labores agrícolas⁴.

9.3.2. Sistemas de entrega de fertilizantes

La aplicación indiscriminada de grandes cantidades de fertilizantes, en forma de sales de amonio, urea, nitratos o fosfatos, puede perjudicar al ambiente y eventualmente a la salud humana. Aún en el suelo, muchos de los fertilizantes no están disponibles para las plantas y causan polución con lo que se acrecienta la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) y se contaminan suelos y fuentes de agua. Además, se presentan pérdidas asociadas la manera de aplicación, la volatilización o reacciones químicas, excreción por parte de la planta, degradación microbiana, etc.²⁹ Como respuesta a esta problemática, los fertilizantes cubiertos con NPs (nanorevestimientos) pueden contribuir a minimizar tales pérdidas mediante emulsiones más estables, mejor cubrimiento de la superficie de las raíces, más bajas tasas de aplicación, aplicación precisa, liberación lenta, rápida disolución, la disponibilidad eficiente de fertilizantes y la mitigación de la contaminación ambiental.

Se han usado NPs como fertilizantes de plantas⁴. Así, NPs de sílica (20-40 nm) aplicadas a cultivos de maíz creciendo en suelos franco arenosos han tenido efecto positivo sobre el crecimiento y la fisiología de esta planta³⁰. El uso de nanotubos de carbono de pared múltiple (*Multi-Walled Carbon NanoTubes*, MWCNT) de 30 nm de diámetro sobre semillas de *Brassica juncea* han mostrado efecto benéfico sobre la germinación y crecimiento del sistema radicular y aéreo³¹; el fullereno ha permitido incrementar la capacidad de retención de agua, la biomasa y el rendimiento de fruto (en 118 %) en melón y los nanotubos de carbono incrementaron la producción de tomate en 200 %³².

Algunos ejemplos de sistemas de entrega de fertilizantes químicos mediante NPs incluyen nanorevestimientos de azufre (>100 nm) y uso de NPs poliméricas de quitosano (78 nm) que controlan la liberación de NPK de fuentes como urea, Ca_2PO_4 y KCl ³³ NPs de ZnO como ingredientes activos en fertilizantes³⁴ y NPs de hidroxiapatita modificadas con urea con como aditivos en fertilizantes de N de liberación controlada³⁵. También existen posibilidades de emplear NPs con biofertilizantes, por ejemplo, en formulaciones de microorganismos benéficos (*Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, algas verde-azules, etc.) para formación de micorrizas y promotores de crecimiento y nanoformulaciones de micronutrientes para aspersión foliar y suplementación de suelos con nutrientes atrapados en NMs para liberación lenta³⁶.

Mucho interés existe en conocer los efectos de la presencia de NPs de plata (AgNP) en los suelos agrícolas. Las AgNP exhiben un amplio espectro de propiedades antimicrobianas contra todas las clases de microorganismos y poseen numerosas propiedades físico químicas distintivas comparado con la plata a granel. Si bien el potencial para control de plagas y enfermedades en plantas podría ser interesante, hay una preocupación relacionada con el hecho de que se ha desarrollado, con diferentes propósitos, una amplia gama de productos basados en AgNP y se espera que residuos de tales entren a los ecosistemas naturales posiblemente vía suelos y ciertamente hace falta evaluar el efecto de tales NPs sobre la intrincada relación planta-suelo, además, es rudimentario el conocimiento que se tiene sobre la relación AgNP-planta³⁷.

Ciertamente existen resultados experimentales prometedores para el uso de nanobiotecnología en el sector agrícola. Sin embargo, se hace necesario profundizar en la investi-

gación para optimizar puntos críticos tales como el almacenamiento y la aplicación de formulaciones; la deshidratación y la formación de agregados¹²; el movimiento de NPs a través de la raíz y la traslocación interna en las plantas³⁸; la posible toxicidad sobre otros elementos del suelo^{28,37} y la presencia de diversos NMs (residuos de otras aplicaciones nanotecnológicas) sobre los suelos agrícolas³⁹.

9.3.3. Introducción de ácidos nucleicos

La posibilidad de hacer modificación genética de manera controlada y con una precisión considerable se hizo posible, en parte, gracias a la utilización de biobalística, un sistema basado en bombardeo de micropartículas de oro y tungsteno⁴⁰. Si bien tal sistema ha permitido generar cultivos genéticamente modificados (GM), ciertamente presenta varios obstáculos técnicos relacionados con el transporte a través de la membrana celular, el consumo y la degradación del ADN en los endo-lisosomas, el tráfico intracelular del ADN al núcleo, la utilización de cantidades limitadas de material genético y la baja eficiencia del sistema de transformación (0,01 – 20 %), entre otros.

Ante tales barreras técnicas, la nanotecnología surge como una herramienta importante porque puede facilitar el acceso de los ácidos nucleicos¹ y de partículas diversas (liposomas y polímeros catiónicos nanoparticulados) a la célula con incremento de la eficiencia del proceso de transformación, más bajos requerimientos de plásmidos y de oro comparado con el sistema tradicional⁴¹, menor daño físico de los tejidos e incremento de la regeneración de plantas. Por ejemplo, es posible emplear NPs de oro (5–25 nm) embebidas en matrices de carbono o superficies tipo panel con NPs de sílica con poros de 3 nm cubiertas con disulfuro y NPs de oro (10-15 nm) para transportar ADN con la pistola génica a células aisladas y hojas intactas⁴². NPs de quitosano (< 500 nm) estabilizan la entrega de ARNdc (unión, protección y penetración; y NPs de almidón (50-100 nm) conjugadas con material fluorescente Tris-(2,2'-bipyridine) rutenio (Ru(bpy)₃)²⁺ se han usado para introducir plásmidos en *Dioscorea* sp. en presencia de ultrasonido¹².

9.3.4. Nanosensores

Se podrían definir los nanosensores como NPs dispuestas y acopladas de manera tal que permiten detectar cambios en diversas variables (temperatura, calidad de luz, humedad, presión, campo magnético, corriente eléctrica, etc.) y cuyo efecto puede ser medido a escala macroscópica. De este modo, la nano-biotecnología abre la posibilidad de generar “nano-dispositivos” que se basan en el comportamiento atómico y molecular de los compuestos orgánicos (proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, etc.) y de las estructuras biológicas (por ejemplo, receptores de membranas y organelos) y de sus respuestas a distintas variables.

Algunas de las propiedades de los nanomateriales se convierten en ventajas específicas en la producción de sensores, por ejemplo, en la formación de variadas nanoestructuras con diversas aplicaciones¹³. Las nanoestructuras más importantes para nanosensores son fullerenos, nanotubos, nanofibras, nanocolumnas, nanocavidades, grafeno y fluoróforos⁴.

¹ Incluidos Ácido Desoxirribonucleico (ADN) y Ácido Ribonucleico de doble cadena (ARNdc) para el desarrollo de tecnología de ARN de interferencia (RNAi, por sus siglas en inglés)

Aunque aún en estado de investigación, el potencial para desarrollar nano-biosensores y métodos de diagnóstico que hagan posible el seguimiento *in situ* hará que los agricultores puedan monitorear las condiciones ambientales para crecimiento y protección de las plantas. Se espera que los sistemas de detección contribuyan a incrementar la productividad y a disminuir el uso de agroquímicos (antibióticos, pesticidas y nutrientes) gracias a una intervención temprana. De igual modo, los nano-biosensores serán responsables de aumentar en varios órdenes de magnitud la sensibilidad de detección⁴³, por ejemplo de agroquímicos (en suelos, aguas y plantas) o de fitopatógenos.

Las ventajas de los nanosensores se han relacionado con la miniaturización, la medición de más variables, la mayor sensibilidad, la menor cantidad de muestra, las más rápidas tasas de detección, las lecturas en tiempo real y la aplicación de metodologías diversas (fluorimétrica, electrónica, colorimétrica, pH, cambios de masa, etc.). Tecnología de detección de patógenos basada en NPs de sílica (60 nm) con un colorante fluorescente y un conjugado de anticuerpos específicos a antígenos de superficie del microbio de interés ha sido desarrollada⁴⁴ y con ella se podrá detectar el comportamiento de una sola célula. De otro lado, detección y diferenciación específica de pesticidas organofosforados y organoclorados se ha reportado mediante el empleo de NPs (11,5 nm) fluorescentes de CuS recubiertas con glutatión⁴⁵.

9.3.5. Secuenciación de genomas

Un ejemplo del uso de la nanotecnología para resolución de problemas biológicos es la secuenciación del ADN. En términos muy simples, las instrucciones (genes) que definen a cada organismo vivo están cifradas en secuencias de nucleótidos que conforman a los ácidos nucleicos. Al conjunto total de tales instrucciones (genes), representadas en secuencias de millones de pares de nucleótidos (o técnicamente conocidos como pares de bases (pb) de ADN), es a lo que se le conoce como genoma.

Desde 1975, la biotecnología hizo posible conocer pequeñas secuencias (de 100 a 150 pb) de esos nucleótidos. Sin embargo, la necesidad de determinar la mayor cantidad de secuencia de los genes junto con los avances en miniaturización de *hardware*, la generación de *software* y la mayor inversión de los sectores público y privado, convergieron de forma tan eficiente que hicieron posible que la tecnología de secuenciación evolucionara y se refinara de modo tal que desde hace varios años se están secuenciando genomas completos (tabla 9.2), lo cual representa un avance enorme si se tiene en cuenta que un genoma como el humano tiene más de 3200 millones de pares de bases (pb) de ADN y se contienen allí entre 26500 y 38 600 genes que codifican para proteínas⁴⁶⁻⁴⁸. Para el año 2015 habían sido secuenciados completamente 6653 genomas de igual número de especies y más de 63000 proyectos de secuenciación se encontraban en desarrollo⁴⁹.

La técnica de secuenciación del ADN ya se ve beneficiada con los avances de la nanotecnología^{50,51}. Por ejemplo, la secuencia completa del genoma de un ser humano (James D. Watson) se pudo realizar en dos meses a un centésimo del costo tradicional mediante el uso de secuenciación paralela masiva en volúmenes de reacción de picolitros en sistemas libres de células⁵². Nanoporos (biológicos, formados por proteínas de membrana; sintéticos, hechos con nitruro de silicio o grafeno; o híbridos) se han utilizado para analizar ADN mediante el monitoreo de corrientes iónicas mientras cadenas individuales son capturadas y

conducidas a través del poro en una sola fila por un voltaje aplicado⁵³. La nanobiotecnología ha introducido la miniaturización del proceso de secuenciación del ADN (<http://www.nanoporetech.com>), lo cual ha llevado a secuenciar genomas en cuestión de horas y ha disminuido los costos, pasando de miles de millones de dólares a miles por cada genoma secuenciado (figura 9.3).

Con la enorme cantidad de información que se ha generado en los proyectos de secuenciación, ha surgido la genómica, que es el estudio detallado de los genomas, es decir, el análisis a gran escala de un vasto número (miles) de genes simultáneamente. La información de las secuencias de ADN permite conocer o inferir la estructura de la información genética en cada genoma (genómica estructural) y hacer comparación entre millones de secuencias de diferentes organismos (genómica comparativa), todo ello con enorme potencial de aplicación en diversos sectores (médico-farmacéutico, agrícola, industrial, legal, etc.).

Pero conocer el número y el orden de los nucleótidos que conforman a los genes dentro de los genomas no es suficiente, lo importante es conocer la función de cada gen, y para esta tarea la biotecnología ha desarrollado instrumentos y metodologías (genómica funcional)

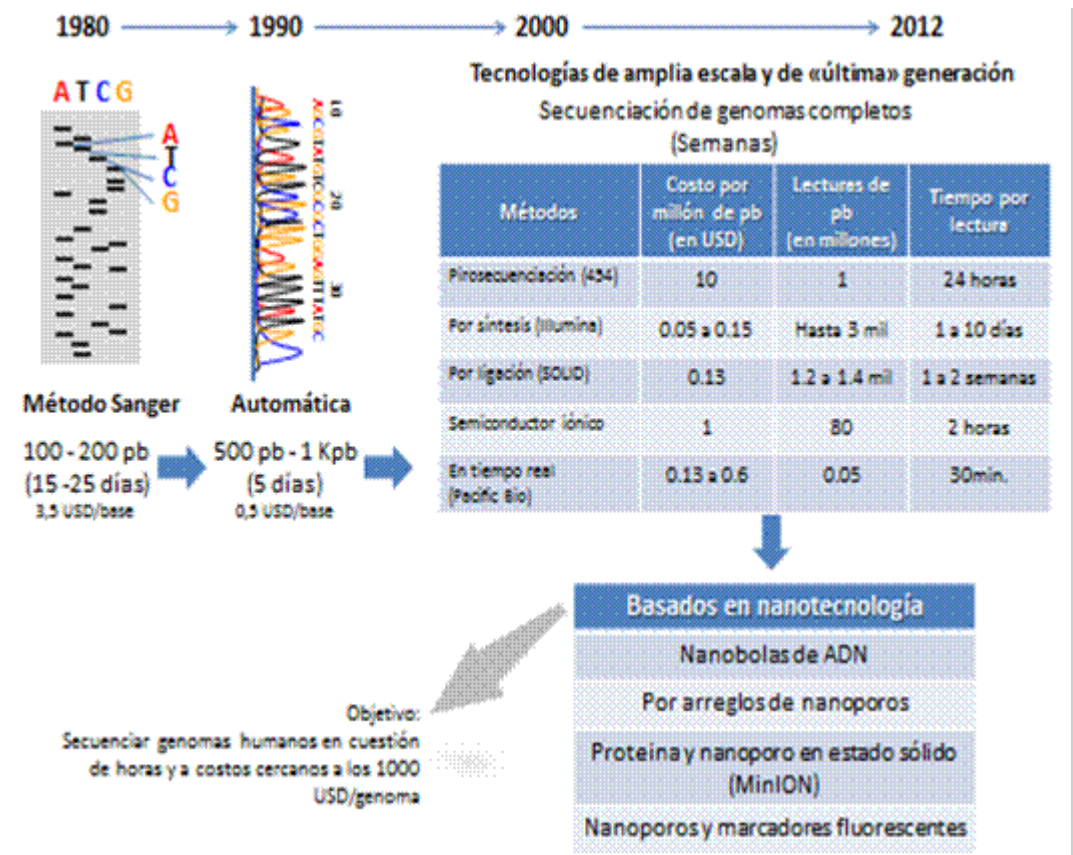


Fig. 9.3: Evolución de la secuenciación del ADN. En la década de 1980 el método predominante era la secuenciación manual. En la de 1990, la secuenciación automática hizo su aparición, disminuyendo tiempos y costos y aumentando la calidad. Durante la década del 2000 sustanciales avances e ingeniosas metodologías fueron generadas. En 2012, la era de la “nanosecuenciación” hizo su aparición con el objetivo de secuenciar genomas completos en tiempo real y a costos inferiores a 1000 dólares.

Tabla 9.2: Resumen de los avances en secuenciación de genomas de algunas especies de interés agronómico. Basado en <http://www.genomesonline.org>⁵⁴

Nombre (<i>Especie</i>)	Tamaño del genoma (en miles de pb)	Número de genes potenciales
<i>Arabidopsis</i> (<i>Arabidopsis thaliana</i>) ⁵⁵	119.707.416	31.392
<i>Arabidopsis lyrata</i> MN47 ⁵⁶	206.667.935	32.549
Arroz (<i>Oriza sativa</i> ssp. <i>japonica</i>) ⁵⁷	360.785	37.544
<i>Oryza sativa</i> ssp. <i>Japonica</i> ⁵⁸	420.000	50.000
<i>Oryza sativa</i> L. ssp. <i>Indica</i> ⁵⁹	420.000	59.855
<i>Brassica rapa</i> ⁶⁰	485.000	
<i>Cucumis sativus</i> var <i>sativus</i> L. ⁶¹	243.500	63.312
<i>Jatropha curcas</i> ⁶²	285.858	40.929
Maíz (<i>Zea mays</i>) cv B73 ⁶³	2.065.722.704	106.046
Manzana (<i>Malus domestica</i>) cv Golden delicious ⁶⁴		
Papa (<i>Solanum tuberosum</i>) ⁶⁵	727.424.546	24.377
Palma de aceite (<i>Elaeis guineensis</i>) var. <i>Tenera</i> ⁴⁹	1.800.000	
<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>Dura</i> ⁴⁹	1.800.000	
<i>Populus balsamifera</i> <i>trichocarpa</i> ⁶⁶	480.871.302	40.566
Soja (<i>Glycine max</i> cultivar Williams 82) ⁶⁷	973.344.380	55.787
Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> BTx623) ⁶⁸	738.540.932	29.448
<i>Vitisvinifera</i> L. Pinot Noir, clone ENTAV 115 ⁶⁹	504.600	29.585
<i>Vitis vinifera</i> PN40024 ⁷⁰	791.124.756	24.954

que permiten identificar la función de un número muy amplio - en el orden de miles - de genes simultáneamente en muy poco tiempo (horas). La genómica funcional es un ejemplo de convergencia tecnológica que ha permitido ampliar la base real de conocimiento biológico, ha disminuido los costos para identificación de función de genes y ha obligado a la creación de consorcios de investigación.

Tan poderosa ha sido la aplicación de la genómica que no solo se ha circunscrito al análisis del genoma de un individuo de una especie particular, sino que ha estudiado conglomerados de organismos de manera simultánea, mediante el análisis del material genético directamente obtenido de muestras del medio ambiente, aplicación conocida como metagenómica (genómica medioambiental, ecogenómica o genómica de comunidades). Así, la metagenómica permite estudiar organismos en su ambiente natural e incluso explorar aquellos de difícil cultivo en el laboratorio⁷¹. A comienzos de 2015, alrededor de 565 metagenomas habían sido estudiados⁴⁹.

Paralelamente, las enormes cantidades de secuencias generadas y de información asociada han sido incluidas en bases de datos (públicas y privadas) y su acceso se hace mediante herramientas sencillas pero muy eficientes, generadas por una disciplina conocida como bioinformática. De este modo, con las nuevas disciplinas (genómica, otras ómicas, bioinformática) aplicadas a la secuenciación de genomas, identificación de la función de genes

e identificación de péptidos y metabolitos se espera ampliar los límites de acción de la biología y la biodiversidad en la agricultura.

9.3.6. *Remediación*

Los actuales métodos de remoción de contaminantes de suelos y aguas pasan por incineración, fitoremediación, procesos fotoquímicos, uso de ultrasonido, oxidación avanzada, etc. Sin embargo, mediante la nano-biotecnología se abren nuevas formas de hacer más eficiente dicha descontaminación. Por ejemplo, pesticidas como la atrazina, el molinato y el clorpirifos, presentes en fuentes de agua, pueden degradarse con NPs de hierro cerovalente (ZVI, 1-100 nm) aplicados directamente. Biopolímeros de FeS (200 nm) degradan lindano, contaminante persistente en fuentes de agua y alimentos⁷². Se ha reportado la descomposición fotocatalítica de residuos de pesticidas usando titanio con Fe₂O₃¹². En la bio-remediación de metales tóxicos se reporta la disminución de la toxicidad de cobre por conversión del mismo en NPs por hongos endomicorrícicos. También se reporta el uso de NPs para prevención de la erosión (formación de “costras biodegradables” en el suelo¹²).

9.4. **Bioseguridad y nano-biotecnología**

La bioseguridad es una serie de medidas regulatorias que tienden a prevenir las pérdidas de la integridad biológica. Además, es una expresión de la soberanía de los países¹⁴. La bioseguridad compete a los sectores y a la institucionalidad ambiental, agropecuaria, alimentaria y de salud humana presentes en los Estados, los cuales han reconocido la importancia del tema y han generado un marco regulatorio descrito en el Convenio de Diversidad Biológica -CDB- (UN 1992), seguido por un instrumento de política más detallado que es el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del CDB – PCB- (UN 2000).

En principio, el PCB se ha establecido en función de los riesgos potenciales sobre el ambiente, la salud humana y animal resultado de la manipulación genética (introducción de transgenes). Sin embargo, por lo novedoso del tema, por la dificultad del control preciso de su funcionamiento y por sus enormes potencialidades de aplicación, algunos grupos han considerado que el PCB se debe expandir para incluir a la nano-biotecnología, al igual que a las nuevas biomoléculas y a las formas de vida artificial.

En la actualidad, no existe un marco regulatorio formal para la utilización de la nano-biotecnología⁷³, sin embargo la utilización de procesos y el desarrollo de productos nanotecnológicos (en el mercado existen varios cientos de ellos⁷) se han acogido a la regulación de cada país en temas específicos, lo cual lleva a pensar que para los productos de la nano-biotecnología podría ser necesario realizar evaluaciones de riesgo caso a caso, acudir al principio precautorio y determinar la relación beneficio-costos (ambiental, social y económico) de la tecnología.

Los riesgos potenciales de la nano-biotecnología se relacionan con el hecho de que las NPs desafían las leyes de la física de las escalas hasta el momento empleadas por los insumos de la agricultura, es decir, hay desconocimiento y se parte del supuesto, entendible, de que los nanomateriales (SiO₂²⁸, AgNP³⁷) podrían tener efectos tóxicos que no son visibles en los materiales de escalas superiores especialmente en ecosistemas agrícolas abiertos⁷⁴.

El objetivo central de la regulación de nuevas tecnologías es adoptar medidas que protejan la salud pública y el ambiente y simultáneamente promover el beneficio de la investigación y la innovación. Con las nuevas tecnologías, las decisiones de los entes regulatorios tienden a tomarse en función de la evidencia, la certeza de los fenómenos naturales y la extensión de los posibles riesgos⁷⁵.

Vale anotar que la nano-biotecnología *per se* está en proceso de desarrollo y que como toda tecnología en la historia de la humanidad puede ser empleada con fines pacíficos o como objeto de amenaza. Claramente para lo primero el marco regulatorio actual basado en el PCB incluye medidas de bioseguridad tendientes a garantizar la integridad biológica de las actividades productivas humanas, sin embargo, para lo segundo las medidas de bioseguridad del PCB serían insuficientes.

9.5. Educación y comunicación de la nano-biotecnología

Hay lecciones aprendidas relacionadas con la desinformación de la tecnología, en particular de la biotecnología. Como resultado, se ha visto la pérdida de oportunidades (económicas, productivas, etc.) y la recurrente presentación de debates estériles basados en interpretaciones más que en hechos científicos. La nano-biotecnología es poderosa, tiene un potencial enorme y será necesario transmitir de manera objetiva e imparcial tales potencialidades, sus beneficios, sus posibles riesgos y la manera de mitigar posibles efectos adversos⁷⁶. En consecuencia, la educación en este tipo de tecnologías será importante para poder generar masa crítica de académicos, inversionistas y usuarios.

La esencia de la educación y la buena comunicación en temas tecnológicos debe tener como objetivos principales brindar información y con ello eliminar el temor y mostrar cómo la ciencia y la tecnología se constituyen en los fundamentos sólidos que desvirtúan dicho temor.

Uno de los mensajes principales a comunicar es que la nano-biotecnología potenciará a la agricultura de precisión con técnicas novedosas, apoyando el uso óptimo de los recursos naturales mediante la aplicación de prácticas agrícolas tradicionales y favoreciendo una intensificación sustentable de las actividades agroalimentarias. Este mensaje podría posicionarse fácilmente si se ilustra con ejemplos tales como la entrega de pesticidas-nanocidas encapsulados para liberación controlada, la liberación lenta de fertilizantes asistida por nanomateriales, el uso eficiente de biofertilizantes y micronutrientes, la aplicación eficiente de agroquímicos en campo, el mejoramiento genético, los nanosensores para detección de pesticidas y patógenos, la “nanosecuenciación” de genomas, las NPs para la conservación de suelos y el potencial para bioremediación.

9.6. Nano-biotecnología en América Latina

En términos generales se puede decir que la nanotecnología se está desarrollando en centros de investigación, universidades y unas pocas empresas de algunos países de América Latina, en particular Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica y México. Esfuerzos en capacitación se están implementando y algunos mediante la creación de iniciativas birregionales tales como el Centro Argentino Brasileño de Nanociencia y Nanotecnología (2004), una instancia de coordinación involucrada en la formación de recursos humanos en esta área

(<http://cabnn.mincyt.gov.ar/>) o los convenios recientemente firmados entre Brasil y Colombia. Se reconoce en Brasil al líder nanotecnológico de la región.

Desafortunadamente, no se conocen reportes asociados con la capacitación, la investigación y el desarrollo en nano-biotecnología, aunque puede ser solo cuestión de tiempo antes de que se conozcan resultados de aplicación de la nano-biotecnología en la agricultura de la región; más aún si se considera que se trabaja en temas de fito-mejoramiento, manejo tecnológico de suelos, fertilización, bio-remediación, genómica y metagenómica, entre otros.

En general, el desarrollo de la nano-biotecnología para el sector agrícola en América Latina es muy incipiente. Sin embargo, ante sus enormes posibilidades, las universidades, los centros de investigación y de desarrollo tecnológico de América Latina deberán profundizar en el conocimiento y la transferencia de tales tecnologías con criterios de inter, multi y transdisciplinariedad, pues las convergencias tecnológicas en agricultura surgen como una tendencia para enfrentar y solucionar de manera integral los problemas actuales del sector, especialmente los vinculados al cambio climático y la seguridad alimentaria.

Los gobiernos, por su parte, debieran apoyar lo antes posible el desarrollo de la nano-biotecnología mediante la generación de políticas, incluidas aquellas de fomento a la investigación básica y aplicada, la atracción de inversión y capital de riesgo, la creación de empresas de base agro-nano-biotecnológica, la articulación con la actual normatividad ambiental y de bioseguridad de los países, entre otros. Todo esto para generar nuevas oportunidades y bienestar a diversos actores (agricultores, ambientalistas, inversionistas, etc.).

Por su parte, organismos de cooperación como el IICA deberán continuar con sus ejercicios de vigilancia tecnológica y apoyar los procesos de difusión y comunicación de técnicas existentes y disponibles entre los potenciales desarrolladores, reguladores y usuarios de estas y otras tecnologías.

El público también tendrá un papel que desempeñar en la consolidación de la nano-biotecnología para el sector agrícola y está relacionado con la necesidad de aproximarse a ella sin prejuicios y con deseos de entendimiento y utilización. Ciertamente, la agro nano-biotecnología no será la única ni perfecta solución a los problemas de la agricultura, pero es una ruta que complementa los esfuerzos actuales de la humanidad por resolver los problemas propios de la actividad productiva.

9.7. Consideraciones finales

La nano-biotecnología es la convergencia de la biotecnología con la nanotecnología. Aunque aún está en los inicios de su desarrollo, son múltiples sus aplicaciones en la agricultura. Por ejemplo, en la estabilización de biopesticidas; la entrega (aplicación, liberación controlada y uso eficiente) de fertilizantes, micronutrientes y agroinsumos tanto de base química como biológica; todo ello con un claro efecto positivo en fitoprotección, nutrición vegetal e impacto ambiental. Adicionalmente, es posible utilizar la nano-biotecnología para la introducción de material genético dentro de las estrategias de fitomejoramiento, usar nanosensores para detección de ácidos nucleicos, pesticidas y patógenos y NPs para conservación de suelos o remediación.

Los costos para considerar la utilización de productos de la nano-biotecnología en la agricultura de manera rutinaria son muy elevados en la actualidad. Sin embargo, ese es el ciclo “natural” de los desarrollo tecnológicos, una fase inicial de investigación y descubrimiento generalmente muy costosa en tiempo y recursos, seguida de una fase de escalamiento y mejora que lleva los costos a valores varios órdenes de magnitud menor, viabilizando económicamente su uso, como ha sido evidente en la evolución de la tecnología del *hardware* (en 1985, 1 MB de RAM costaba 859 dólares; en el 2010, 1 centavo de dólar), de la secuenciación de genomas (secuenciar el primer genoma humano costó 10 millardos de dólares, en la actualidad alrededor de 4 mil dólares con expectativas de bajarlo a mil^{77,78}, o incluso de la modificación genética (de 136 millones de dólares⁷⁹ a 3,5 millones por evento transgénico generado¹⁵).

La bioseguridad tiene un rol relevante que cumplir en el desarrollo y consolidación de la nano-biotecnología para el sector agrícola, al igual que la educación, la comunicación y los sistemas de extensión.

Los retos para emplear la nano-biotecnología en la agricultura de manera generalizada contemplan el desplazar el actual uso excesivo de fertilizantes y pesticidas mediante nuevas alternativas para su entrega, detectar de manera rápida y local la presencia de plagas y patógenos al igual que de los niveles de nutrientes y pesticidas, desarrollar métodos de remoción agroquímica o degradación para promover la salud del suelo, seleccionar nano-materiales para aplicación en campo con criterios de no toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad y hacer disponible la tecnología para el uso sencillo y seguro de las NPs por parte del productor.

La nano-biotecnología potenciará a la agricultura de precisión con técnicas novedosas, favoreciendo un uso sustentable de los recursos naturales. Será función de las universidades, los centros de investigación y de desarrollo tecnológico junto con la inversión del sector público y privado el desarrollo y la transferencia de esta tecnología a los actores de las agriculturas de las Américas.

Referencias

1. AFC Couto, DC Viana, AC Santos, LM Lobo, RL Olio, BG Vasconcelos, AC Assís Neto, AO Sousa. Nanotechnology in medicine. **Journal Innover**, **1(4)**, 1-14 (2014).
2. C Marambio-Jones, EMV Hoek. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. **J. Nanopart. Res.**, **12**, 1531–1551 (2010).
3. MS Diallo, NA Fromer; MS Jhon. Nanotechnology for sustainable development: retrospective and outlook. **J. Nanopart. Res.**, **15**, 2044-2060 (2013).
4. C Parisi, M Vigani, E Rodríguez-Cerezo. Proceedings of a workshop on “nanotechnology for the agricultural sector: from research to the field. Joint Research Centre, European Commission, Luxembourg, 36 (2014).
Disponible en: https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/ipts_jrc_89736_%28online%29_final.pdf
Consultado: 05/05/2015.
5. WW Hoyt, E Mason. Nanotechnology emerging health issues. **J. Chem. Health Saf.**, **15**, 10-15 (2008).
6. A Erdemir. Nanopartículas hechas de ácido bórico aumentan la eficacia lubricante del aceite para motores (en línea).

Disponible en: <http://www.amazings.com/ciencia/noticias/180907b.html>

Consultado: 05/05/2015.

7. Consumer Products Inventory. An inventory of nanotechnology-based consumer products introduced on the market.
Disponible en: <http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/>
Consultado: 05/05/2015.
8. HC Chen, MC Roco, JB Son, S Jiang, CA Larson, Q Gao. Global nanotechnology development from 1991 to 2012: patents, scientific publications, and NSF funding. **J. Nanopart. Res.**, **15**, 1951-1954 (2013).
9. M Auffan, J Rose, JY Bottero, GV Lowry, JP Jolivet, MR Wiesner. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. **Nature Nanotechnol.**, **4**, 634-664 (2009).
10. OECD. "Nanotechnology: An Overview Based on Indicators and Statistics". OECD Science, Technology, and Industry Working Papers 2009/7, Directorate for Science, Technology, and Industry, OECD, Paris. The report was prepared by Christopher Palmberg, Hélène Dernis, and Claire Miguet of the OECD Directorate for Science, Technology and Industry (STI) (2009).
Disponible en: <http://nanoportals.gc.ca/default.asp?lang=En&n=7BA19156-1>
Consultado: 05/05/2015.
11. BH Juárez. Nanopartículas semiconductoras coloidales y aplicaciones. **Anales de Química**, **107(3)**, 229-236 (2011).
12. V Ghormade, MV Deshpande, KM Paknikar. Perspectives for nano-biotechnology enables protection and nutrition of plants. **Biotechnology Advances**, **29**, 792-803 (2011).
13. SJ Tan, MJ Campolongo, D Luo, W Cheng. Building plasmonic nanostructures with DNA. **Nature Nanotechnol.**, **6**, 268-276 (2011).
14. PJ Rocha. Agro-biotecnologías: herramientas biológicas al servicio de la agricultura. **ComunIICA**, **8(enero-julio)**, 22-31 (2011).
Disponible en: <http://webiica.iica.ac.cr/bibliotecas/replica/b2145e/b2145e.pdf>
Consultado: 05/05/2015.
15. PJ Rocha. Avances de la biotecnología y la bioseguridad en América Latina y el Caribe. En: IICA, Situación y desempeño de la agricultura en ALC desde la perspectiva tecnológica 2012. IICA-San José, Costa Rica. Pág. 55-64 (2012).
16. M Gorbacheva, LM Polyanskaya. The determination of the real nano-scale sizes of bacteria in chernozem during microbial succession by means of hatching of a soil in aerobic and anaerobic conditions. Geophysical Research Abstracts 14, EGU General Assembly 2012, 22-27 April 2012 in Vienna, Austria, 797 (2012).
17. D Gust, TA Moore, AL Moore. Solar fuels via artificial photosynthesis. **Acc. Chem. Res.**, **42**, 12192-12193 (2009).
18. JH Kim, DH Nam, CB Park. Nanobiocatalytic assemblies for artificial photosynthesis. **Curr. Op. Biotech.**, **28**, 1-9 (2014).
19. J Ryu, SH Lee, DH Nam, CB Park. Rational design and engineering of quantum-dot-sensitized TiO₂ nanotube arrays for artificial photosynthesis. **Adv. Mater.**, **23**, 1883-1888 (2011).
20. K Tsuji. Microencapsulation of pesticides and their improved handling safety. **J. Microencapsul.**, **18**, 137-147 (2001).

21. ZZ Li, JF Chen, F Liu, AQ Liu, Q Wang, HY Sun, LX Wen. Study of UV-shielding properties of novel porous hollow silica nanoparticle carriers for avermectin. **Pest Manag. Sci.**, **63**, 241-246 (2007).
22. Y Liu, L Yan, P Heiden, P Laks. Use of nanoparticles for controlled release of biocides in solid Wood. **J. Appl. Polym. Sci.**, **79**, 458-465 (2001).
23. JH Kim, DH Nam, CB Park. Nanobiocatalytic assemblies for artificial photosynthesis. **Curr. Op. Biotech.**, **28**, 1-9 (2014).
24. H Guan, D Chi, J Yu, X Li. A novel photodegradable insecticide: preparation characterization and properties evaluation of nano-imidacloprid pesticide. **Biochem. Physiol.**, **92**, 83-91 (2008).
25. ML Tufteland, CP Selitrennikoff, R O’Ryan R. Nanodisks protect amphotericin B from ultraviolet light and oxidation-induced damage. **Pest Manag. Sci.**, **65**, 624-628 (2009).
26. Y El-Nahal, N Shlomo, L Margulies, B Rubin. Reduction of photodegradation volatilization of herbicides in organo-clay formulations. **Appl. Clay Sci.**, **14**, 105-119 (1999).
Disponible en: <http://www.solociencia.com/quimica/07091702.htm>
Consultado: 05/05/2015.
27. E Hodson (ed.). Hacia una bioeconomía en América Latina y el Caribe en asociación con Europa. Editorial Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá (2014).
28. N Le, Y Rui, X Gui, X Li, S Liu, Y Han. Uptake, transport, distribution and Bio-effects of SiO₂ nanoparticles in Bt-transgenic cotton. **J. Nanobiotechnology**. **12**, 50-65 (2014).
29. A Gogos, K Knauer, TD Bucheli. Nanomaterials in plant protection and fertilization: Current state, foreseen applications, and research priorities. **J. Agric. Food Chem.**, **60**, 9781-9792 (2012).
30. R Suriyaprabha, G Karunakaran, R Yuvakkumar, P Prabu, V Rajendran, N Kannan. Growth and physiological responses of maize (*Zea mays* L.) to porous silica nanoparticles in soil. **J. Nanopart. Res.**, **14**, 1294 (2012).
31. A Mondal, R Basu, S Das, P Nandy. Beneficial role of carbon nanotubes on mustard plant growth: an agricultural prospect. **J. Nanopart. Res.**, **13(10)**, 4519-4528 (2011).
32. A Husen, KS Siddiqi. Carbon and fullerene nanomaterials in plant systems. **J. Nanobiotechnology**, **12**, 16-26 (2014).
33. E Corradini, MR Moura, LHC Mattoso. A preliminary study of the incorporation of NPK fertilizer into chitosan nanoparticles. **eXPRESS Polymer Lett.**, **4**, 509-515 (2010).
34. N Milani, MJ McLaughlin, SP Stacey, JK Kirby, GM Hettiarachchi, DG Beak, G Cornelis G. Dissolution kinetics of macronutrient fertilizers coated with manufactures Zinc Oxide nanoparticles. **J Agric. Food Chem.**, **60**, 3991-3998 (2012).
35. N Kottegoda, IM unaweera, NM adusanka, V Karunaratne. A green slow-release fertilizer composition based on urea-modified hydroxyapatite nanoparticles encapsulated wood. **Current Science**, **101**, 73-78 (2011).
36. SF Peteu SF, F Oancea, OA Siciua, F Constantinescu, S Dinu. Responsive polymers for crop protection. **Polymers**, **2**, 229-251 (2010).
37. NA Anjum; SS Gill; AC Duarte; E Pereira; I Ahmad. Silver nanoparticles in Soil–plant systems. **J. Nanopart. Res.**, **15**, 1896 (2013).
38. Z Cifuentes, L Custardoy, JM de la Fuente, C Marquina, MR Ibarra, D Rubiales, A Pérez-de-Luque. Absorption and translocation to the aerial part of magnetic carbon-coated nanoparticles through the root of different crop plants. **J. Nanobiotechnology**, **8**, 26 (2010).

-
39. AA Keller, S McFerran, A Lazareva, S Suh. Global life cycle releases of engineered nanomaterials. **J. Nanopart. Res.**, **15**, 1692 (2013).
 40. P Christou, DE McCabe, WF Swain. Stable transformation of soybean callus by DNA coated gold particles. **Plant Physiol.**, **87**, 671-674 (1988).
 41. PS Vijayakumar, OU Abhilash, BM Khan, BLV Prasad. Nanogold-loaded Sharp-edged carbon bullets as plant gene-carriers. **Adv. Funct. Mater.**, **20**, 2416-2423 (2010).
 42. F Torney, BG Trewyn, VS Lin, K Wang. Mesoporous silica nanoparticles deliver DNA and chemicals into plants. **Nature Nanotechnology**, **2**, 295-300 (2007).
 43. YR Guo, SH Liu, WJ Gui, GN Zhu. Gold immune-chromatographic assay for simultaneous detection of carbofuran and triazophos in water samples. **Anal. Biochem.**, **389**, 32-39 (2009).
 44. X Zhao, LR Hilliard, SJ Mechery, Y Wang, RP Bagwe, S Jin, W Tan. Rapid bioassay for single bacterial cell quantitation using bioconjugated nanoparticles. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, **101**, 15027-15032 (2004).
 45. S Walia, A Acharya. Fluorescent cadmium sulfide nanoparticles for selective and sensitive detection of toxic pesticides in aqueous medium. **J. Nanopart. Res.**, **16**, 2778 (2014).
 46. S Levy, G Sutton, PC Ng, L Feuk, AL Halpern, BP Walenz *et al.* The diploid genome sequence of an individual human. **PLoS Biol.**, **5(10)**, e254 (2007).
 47. JC Venter, MD Adams, EW Myers, PW Li, RJ Mural, GG Sutton *et al.* The Sequence of the Human Genome. **Science** **291**, 1304-1351 (2001).
 48. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, **409(6822)**, 860-921 (2001).
 49. Genomes Online Database
Disponible en: <http://www.genomesonline.org>.
Consultado: 05/05/2015.
 50. H Bayley. Sequencing single molecules of DNA. **Curr. Opin. Chem. Biol.**, **10(6)**, 628–637 (2006).
 51. DD Burns. On single-molecule DNA sequencing with atomic force microscopy using functionalized carbon nanotube probes. Massachusetts Institute of Technology. M.Sc. Thesis (2004).
 52. DA Wheeler, M Srinivasan, M Egholm, Y Shen, L Chen, A McGuire *et al.* The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. **Nature**, **452(7189)**, 872-876 (2008).
 53. F Olasagasti, KR Lieberman, S Benner, GM Cherf, JM Dahl, DW Deamer, M Akeson. Replication of individual DNA molecules under electronic control using a protein nanopore. **Nature Nanotechnology**, **5**, 798–806 (2010).
 54. TBK Reddy, AD Thomas, D Stamatis, J Bertsch, M Isbandi, J Jansson, J Mallajosyula, I Pagani, EA Lobos, NC Kyrpides. The Genomes On Line Database (GOLD) v.5: a metadata management system based on a four level (meta) genome project classification. **Nucleic Acids Res.**, **40(Database issue)**, D571-579 (2014).
Disponible en: <http://www.genomesonline.org>
Consultado: 05/05/2015.
 55. Arabidopsis Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. **Nature**, **408(6814)**, 796-815 (2000).
 56. TT Hu, P Pattyn, EG Bakker, J Cao, JF Cheng, RM Clark *et al.* The *Arabidopsis lyrata* genome sequence and the basis of rapid genome size change. **Nat. Genet.**, **43(5)**, 476-481 (2011).

57. International Rice Genome Sequencing Project. The map-based sequence of the rice genome. **Nature**, **436(7052)**, 793-800 (2005).
58. SA Goff, D Ricke, TH Lan, G Presting, R Wang, M Dunn, *et al.* A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). **Science**, **296(5565)**, 92-100 (2002).
59. J Yu, S Hu, J Wang, GKS Wong, S Li, B Liu *et al.* A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). **Science**, **296(5565)**, 79-92 (2002).
60. *Brassica rapa* Genome Sequencing Project Consortium. The genome of the mesopolyploid crop species *Brassica rapa*. **Nat. Genet.**, **43(10)**, 1035-1039 (2011).
61. S Huang, R Li, Z Zhang, L Li, X Gu, W Fan *et al.* The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. **Nat. Genet.**, **41(12)**, 1275-1281 (2009).
62. S Sato, H Hirakawa, S Isobe, E Fukai, A Watanabe, M Kato *et al.* Sequence analysis of the genome of an oil-bearing tree, *Jatropha curcas* L. **DNA Res.**, **18(1)**, 65-76 (2011).
63. F Wei, J Zhang, S Zhou, R He, M Schaeffer, K Collura *et al.* The Physical and Genetic Framework of the Maize B73 Genome. **PLoS Genet.**, **5(11)**, e1000715 (2009).
64. R Velasco, A Zharkikh, J Affourtit, A Dhingra, A Cestaro, A Kalyanaraman *et al.* The genome of the domesticated apple (*Malus domestica* Borkh.). **Nat. Genet.**, **42(10)**, 833-839 (2010).
65. Potato Genome Sequencing Consortium. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. **Nature**, **475(7355)**, 189-195 (2011).
66. GA Tuskan, S DiFazio, S Jansson, J Bohlmann, I Grigoriev, U Hellsten *et al.* The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray). **Science**, **313(5793)**, 1596-1604 (2006).
67. J Schmutz, SB Cannon, J Schlueter, J Ma, T Mitros, W Nelson *et al.* Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. **Nature**, **463(7278)**, 178-183 (2010).
68. AH Paterson, JE Bowers, R Bruggmann, I Dubchak, J Grimwood, H Gundlach *et al.* The Sorghum bicolor genome and the diversification of grasses. **Nature**, **457(7229)**, 551-556 (2009).
69. R Velasco, A Zharkikh, M Troggo, DA Cartwright, A Cestaro, D Pruss *et al.* A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. **PLoS One**, **2(12)**, e1326 (2007).
70. French-Italian Public Consortium for Grapevine Genome Characterization. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. **Nature**, **449(7161)**, 463-467 (2007).
71. DL Cox-Foster, S Conlan, EC Holmes, G Palacios, JD Evans, NA Moran *et al.* A metagenomic survey of microbes in Honey Bee Colony Collapse Disorder. **Science**, **318(5448)**, 283-287 (2007).
72. KM Paknikar, V Nagpal, AV Pethkar, JM Rajwade. Degradation of lindane from aqueous solutions using iron sulfide nanoparticles stabilized by biopolymers. **Sci. Tech. Adv. Mat.**, **6**, 370-374 (2005).
73. R Molins. Oportunidades y amenazas de la nanotecnología para la salud, los alimentos, la agricultura y el ambiente. **ComunIICA**, **4(enero-abril)**, 38-53 (2008).
74. A Nel, T Xia, L Madler, N Li. Toxic potential of materials at the nanolevel. **Science**, **311**, 622-627 (2006).
75. T Bubela, G Hagen, E Einsiedel. Synthetic biology confronts publics and policy makers: challenges for communication, regulation and commercialization. **Trends in Biotechnology**, **30(3)**, 132-137 (2012).
76. Comisión de las Comunidades Europeas. Nanociencias y nanotecnologías: Un plan de acción para Europa 2005-2009. Bruselas COM 243 (2005)

Disponible en: ftp://ftp.cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/nano_action_plan2005_es.pdf

Consultado: 05/05/2015.

77. E Check. Nanopore genome sequencer makes its debut. **Nature News** (on line) (2012).

Disponible en: <http://www.nature.com/news/nanopore-genome-sequencer-makes-its-debut-1.10051>

Consultado: 05/05/2015.

78. EC Hayden. Pint-sized DNA sequencer impresses first users. **Nature**, **521**, 15–16 (2015).

79. P McDougall. The cost and times involved in the discovery, development and authorisation of a new plant biotechnology derived trait. A consultancy study for Crop Life International (on line). September (2011).

Disponible en: <https://croplife.org/wp-content/uploads/2014/04/Getting-a-Biotech-Crop-to-Market-Phillips-McDougall-Study.pdf>

Consultado: 05/05/2015.