

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



La Aplicación de Nanopartículas de ZnO Comprometen el Desarrollo Foliar y la Absorción de Nitrógeno en Plantas de Acelga (*Beta vulgaris*)

Por:

**SANDRA LIZBETH PÉREZ LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

La Aplicación de Nanopartículas de ZnO Comprometen el Desarrollo Foliar y la Absorción de Nitrógeno en Plantas de Acelga (*Beta vulgaris*)

Por:

**SANDRA LIZBETH PÉREZ LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

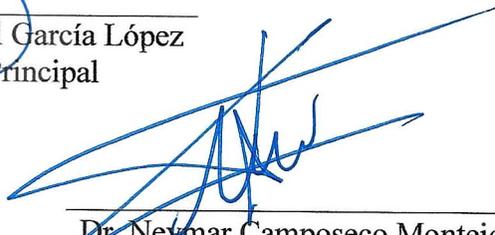
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Josué Israel García López  
Asesor Principal



Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez  
Coasesor



Dr. Neymar Camposeco Montejo  
Coasesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2024

## DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reforma de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como copia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



---

Sandra Lizbeth Pérez López

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A Dios**

El creador de todas las cosas, el que me ha dado la fortaleza y la capacidad para poder cumplir uno de mis sueños y permitirme llegar a este momento especial de mi vida, por los momentos difíciles y buenos que se me han presentado, por sentir siempre su compañía, bendiciones y ayuda en todo el trayecto de mi formación.

### **A mi Alma Terra Mater**

A la gloriosa Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por brindarme la educación necesaria, por darme la oportunidad de pertenecer como alumno en una gran institución y darme herramientas para forjarme.

### **A mi asesor**

Dr. Josué Israel García López

Por su tiempo, paciencia y comprensión para poder llevar a cabo este trabajo de tesis, por todo el apoyo adquirido, infinitas gracias.

## **DEDICATORIA**

### **A mis padres**

**Husiel Pérez Pérez**, mi amado padre, quien fue y seguirá siendo mi mayor inspiración, por el gran esfuerzo que hizo para ayudarme económicamente, por enseñarme sus buenos valores y enseñanzas que gracias a ello hoy logro obtener este logro que no solo es mío.

**Audelina López Hernández**, mi madre, la persona que me enseñó a conocer el mundo de una manera distinta porque me inculco el respeto y la responsabilidad, por confiar en mí y por todo el amor incondicional.

### **A mis hermanos**

**Yuri, Alexis, Pablo, Osielito**, mis compañeros de aventura, por hacerme sentir feliz con sus ocurrencias cuando me sentía triste, mis motivos para seguir adelante.

**A mí**, por nunca darme por vencida, por dar lo mejor de mí y sin duda alguna hice un gran esfuerzo para equilibrar mi vida académica, sentimental y personal.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	i
DEDICATORIA .....	iii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO .....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	v
RESUMEN.....	vi
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivo.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Biofortificación de cultivos .....	4
2.2 Biofortificación con el uso de nanomateriales .....	5
2.3 Absorción de nanofertilizantes en las plantas .....	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	8
3.1 Material genético.....	8
3.2 Fertilizantes utilizados.....	8
3.3 Condiciones de crecimiento y diseño experimental de siembra.....	8
3.4 Cosecha y análisis de minerales .....	9
3.5 Análisis estadístico.....	9
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
4.1 Área foliar y absorción de minerales.....	10
4.2 Absorción de Zn y nitrógeno por la raíz.....	11
4.3 Absorción de Zn y nitrógeno por la hoja.....	11
5. CONCLUSIONES .....	15
6. REFERENCIAS .....	16

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Área foliar (b) de plantas de acelga (*Beta vulgaris* var. cicla) cultivadas durante 74 días en suelo calcáreo modificado con ZnSO<sub>4</sub>, ZnO NPs y ZnO GNPs a concentraciones de 0, 25, 50, 75, 100 y 125 mg de Zn kg<sup>-1</sup> de suelo. Los valores son el promedio de cinco repeticiones, medias (n=5). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los tratamientos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, p≤0.05). ..... 10
- Figura 2. % de N kg<sup>-1</sup> PF (a) y Mg de Z kg<sup>-1</sup> PF (b) en raíces de plantas de acelga (*Beta vulgaris* var. cicla) cultivadas durante 74 días en suelo calcáreo modificado con ZnSO<sub>4</sub>, ZnO NPs y ZnO GNPs a concentraciones de 0, 25, 50, 75, 100 y 125 mg de Zn kg<sup>-1</sup> de suelo. Los valores son el promedio de cinco repeticiones, medias (n = 5). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los tratamientos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, p≤0.05). ..... 11
- Figura 3. % de N kg<sup>-1</sup> PF (a) y Mg de Z kg<sup>-1</sup> PF (b) en hojas de plantas de acelga (*Beta vulgaris* var. cicla) cultivadas durante 74 días en suelo calcáreo modificado con ZnSO<sub>4</sub>, ZnO NPs y ZnO GNPs a concentraciones de 0, 25, 50, 75, 100 y 125 mg de Zn kg<sup>-1</sup> de suelo. Los valores son el promedio de cinco repeticiones, medias (n = 5). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los tratamientos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, p≤0.05). ..... 12

## RESUMEN

En este estudio, las plantas de espinaca fueron cultivadas en condiciones de invernadero en suelo modificado con nanofertilizantes de zinc para determinar su desarrollo foliar y la absorción de nitrógeno (N) y zinc (Zn) en tejidos de la planta. Las plantas se cultivaron durante 74 días, los fertilizantes aplicados fueron nanopartículas metálicas de óxido de Zn (ZnO NPs), nanopartículas orgánicas de Zn (ZnO GNPs) y sulfato de Zn ( $\text{ZnSO}_4$ ) a concentraciones de 0 (control, utilizando suelo sin aplicación de fertilizantes de Zn), 25, 50, 75, 100 y 125 mg de Zn/kg de suelo. El desarrollo de área foliar fue superior en 30.58% al aplicar  $\text{ZnSO}_4$ , al compararlo con los nanofertilizantes. En cuanto a la absorción de minerales en la raíz, en el tratamiento con  $\text{ZnSO}_4$  el % de N aumentó 38.52%, mientras que ambas NPs (ZnO NPs, ZnO GNPs) disminuyeron en 42.66 y 45.33%, comparados al control. En el caso de la absorción del N por la hoja, se presentó la misma tendencia que en la raíz, el % de N aumentó 22.01% en  $\text{ZnSO}_4$ , mientras que en ZnO NPs disminuyó 12.04 y 15.64% en ZnO GNPs. Esto indica que el efecto agronómico y la absorción de los fertilizantes a base de Zn depende de la disolución del elemento en la superficie de la raíz, y la utilización del mineral activo disponible para el transporte ascendente en los haces vasculares.

## 1. INTRODUCCIÓN

En México, según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en el año 2022 se tuvieron 847,716 defunciones registradas, las tres principales causas de muerte a nivel nacional fueron enfermedades del corazón (24%), diabetes mellitus (14%) y tumores malignos (11%). Estas enfermedades están relacionadas con la falta de micronutrientes como minerales y vitaminas, entre ellos se encuentran el hierro y el Zn. La carencia de Zn es el problema de malnutrición más frecuente en los países en vías de desarrollo que tienen limitaciones al acceso de alimentos ricos en este nutriente, esto por la dependencia de basar su alimentación en cereales (Poudel et al., 2023). La baja disponibilidad de Zn en los cereales se debe a la fijación de fitatos (Gupta et al., 2020). La principal causa de deficiencia de Zn en los países sub-desarrollados es la dependencia de alimentos caracterizados por una alta densidad calórica pero un menor contenido de Zn biodisponible (Kruger et al., 2014).

Además, se considera que la deficiencia de Zn en los suelos agrícolas es la carencia de micronutrientes más extendida geográficamente y que más limita la producción de cultivos (las pérdidas de rendimiento pueden superar el 40%), mientras que su exceso en el suelo puede ser de origen geológico o antropogénico (Noulas et al., 2018). Se han propuesto diferentes enfoques para mitigar problemas ocultos del hambre, como la deficiencia de Zn, dentro los que destacan la proporción y diversidad de verduras en la dieta, el enriquecimiento alimentos, la suplementación con nutrientes y el bioenriquecimiento de los cultivos (Ramapuram et al., 2018). Entre estas estrategias, la biofortificación con Zn se considera el enfoque más sostenible para tratar la deficiencia de Zn en poblaciones susceptibles. Los cultivos pueden biofortificarse mediante distintos enfoques, incluyendo la ingeniería genética, el mejoramiento convencional y manejo agronómico (Marques et al., 2021).

Dentro de los enfoques agronómicos, la fertilización con Zn es rentable para mejorar su concentración en las hortalizas (Farooq et al., 2018). Sin embargo, los fertilizantes de convencionales a base de Zn son altamente solubles y tienen una baja eficiencia de uso debido a la inmovilización del Zn por suelos neutros a alcalinos y su escasa movilidad en las plantas (Adisa et al., 2019). Por lo tanto, es necesario explorar un nuevo fertilizante de Zn más eficiente y de bajo riesgo medioambiental como sustituto del fertilizante convencional. Considerada como una tecnología emergente, la nanotecnología a través del uso de nanopartículas (1-100 nm) aplicadas como nanofertilizantes en cultivos, permite una mejor absorción y asimilación de nutrientes específicos como el Zn, esto en comparación con la fertilización común ya que el suministro de nutrientes se da en forma gradual y controlada con el fin de incrementar el contenido de minerales de manera puntual (García-López et al., 2019).

En cierta medida, las NPs pueden mejorar el crecimiento y la calidad nutricional de las plantas, Kah et al. (2018) indicaron que los nanofertilizantes mejoraban el rendimiento en un 20-30% en comparación con los productos convencionales. Sin embargo, pocos estudios se han centrado en determinar los efectos sobre el contenido de Zn y su potencial agronómico en cultivos hortícolas como la acelga. En atención a lo anterior, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto que tendrá el suelo calcáreo modificado con nanofertilizantes de Zn sobre la absorción de este elemento en la planta, además de evaluar el desarrollo del área foliar.

## **1.1 Hipótesis**

H<sub>0</sub>: El suelo modificado con ZnSO<sub>4</sub>, NPs ZnO y BNPs ZnO a concentraciones de 0, 10, 25, 50, 75 y 125 mg de Zn/kg de suelo modifica el desarrollo foliar y la absorción de N y Zn en plantas de acelga.

H<sub>1</sub>: El suelo modificado con ZnSO<sub>4</sub>, NPs ZnO y BNPs ZnO a concentraciones de 0, 10, 25, 50, 75 y 125 mg de Zn/kg de suelo no modifica el desarrollo foliar, ni la absorción de N y Zn en plantas de acelga.

## **1.2 Objetivo**

Evaluar el efecto que tendrá el suelo calcáreo modificado con nanofertilizantes de zinc sobre el desarrollo de área foliar y la absorción de N y Zn en plantas de acelga.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 Biofortificación de cultivos**

La biofortificación es el proceso por el cual se aumenta la densidad de nutrientes de los cultivos alimentarios mediante el fitomejoramiento convencional y/o la mejora de las prácticas agronómicas y/o la biotecnología moderna sin sacrificar ninguna característica preferida por los consumidores o, lo que es más importante, por los agricultores (Nestel, 2006). La biofortificación de micronutrientes esenciales en plantas de cultivo puede lograrse mediante tres enfoques principales, a saber, transgénico, convencional y agronómico, que implican el uso de biotecnología, mejora de cultivos y estrategias de fertilización. La mayoría de los cultivos a los que se aplican los enfoques transgénico, convencional y agronómico son cultivos básicos como el arroz, el trigo, el maíz, el sorgo y el tomate (Garg et al., 2018).

La biofortificación mediante métodos agronómicos requiere la aplicación física de nutrientes para mejorar temporalmente el estado nutricional y sanitario de los cultivos, y su consumo mejora el estado nutricional humano (Cakmak y Kutman, 2017). En comparación con las formas inorgánicas de minerales, las orgánicas están más disponibles para el hombre, ya que pueden absorberse más fácilmente, se excretan menos y sus síntomas de toxicidad son menos intensos (Cakmak, 2008). Los microminerales como el hierro, zinc, cobre y manganeso se encuentran en diversos grados en la parte comestible de las plantas y suelen absorberse del suelo. La mejora del estado de los micronutrientes del suelo mediante su aplicación como fertilizantes puede contribuir a disminuir la deficiencia de micronutrientes en los seres humanos (Cakmak, 2008).

Cuando los cultivos se desarrollan en suelos en los que los elementos minerales dejan de estar disponibles inmediatamente en el suelo y/o no se translocan fácilmente a los tejidos comestibles, se practica la aplicación selectiva de fertilizantes inorgánicos solubles a las raíces o a las hojas. La biofortificación agronómica es sencilla y poco costosa, pero requiere especial atención en cuanto a la fuente de nutrientes, el método de aplicación y los efectos sobre el medio ambiente (Garg et al., 2018). A continuación, se describen algunos de los avances en la biofortificación de cultivos con el uso de nanofertilizantes.

## **2.2 Biofortificación con el uso de nanomateriales**

La nanobiofortificación es un nuevo enfoque que ayuda a enriquecer los cultivos con nutrientes esenciales para complementar la dieta humana con una alimentación equilibrada utilizando nutrientes contra la malnutrición. Este nuevo enfoque tiene varias ventajas y desventajas como los nanofertilizantes o los nutrientes basados en nanopartículas (El-Ramady et al., 2021). Los aspectos positivos pueden incluir incrementos de la producción de cultivos y la nanorremediación de suelos y aguas, mientras que los principales impactos negativos pueden incluir la toxicidad y la nanocontaminación (Martínez et al., 2021). La síntesis verde de nanopartículas (NPs) podría lograrse utilizando extractos de plantas (es decir, hojas, raíces, flores y semillas), microbios (por ejemplo, bacterias, levaduras, hongos y algas) y biomoléculas (enzimas, proteínas y carbohidratos), que representan sustratos biológicos en lugar de químicos como disolventes y agentes estabilizadores para reducir la naturaleza nociva del producto (El-Ramady et al., 2021). Las nanopartículas basadas en nutrientes o nanonutrientes son una fuente importante para suministrar a las plantas cultivadas los nutrientes suficientes y adecuados para la nutrición de las plantas, que representan la fuente principal para la salud humana (Zhiyuan et al., 2021).

Las nanopartículas en forma de plata (Ag), óxido de titanio (TiO<sub>2</sub>), óxido de zinc y la hidroxiapatita (Ag-NPs, TiO<sub>2</sub>-NPs y ZnO-NPs) podrían utilizarse en la nutrición y el control de sanidad en cultivos de interés agronómicos (Deng et al., 2020). Aunque se han aplicado diversas nanopartículas como nanofertilizantes o nanopesticidas, que promueven la productividad de los cultivos, podrían causar algunos problemas en las interfaces suelo-planta, en particular debido a las sobredosis que pueden ocasionar (Ragab y Saad-Allah, 2020). Además, la aplicación de nanofertilizantes puede mejorar las plantas cultivadas sometidas a estrés a través de muchos mecanismos, como la mejora del sistema de defensa antioxidante, la promoción de la fotosíntesis, el aumento de agua, nutrientes y fitohormonas (Zulfiqar y Ashraf, 2021).

Por otra parte, la mejor absorción de nutrientes del suelo al aplicar nanofertilizantes puede contribuir al incremento de minerales de interés en el grano o las partes comestibles de la planta (Ruiz et al., 2021), esto debido a su tamaño nanométrico (1–100 nm) que ayuda a mejorar la eficiencia del uso de nutrientes por parte de las plantas debido a su pequeño tamaño, mayor área de superficie y liberación gradual de sus formas iónicas (Rawat et al., 2018). No obstante, es importante considerar que los medios de cultivo pueden representar un factor crucial que condiciona la eficacia del proceso de biofortificación, siendo preferible el suelo normal a gran escala de producción, pero los hidropónicos y los in vitro son los más adecuados a pequeña escala. Existen muchos métodos de biofortificación, como la impregnación de semillas mediante nanomateriales artificiales, que pueden considerarse una buena vía para aliviar la malnutrición (Kah et al., 2019, Acharya et al., 2020). Además de la imbibición de semillas, la biofortificación podría lograrse mediante la aplicación foliar o, por su aplicación dirigida al suelo. Como se mencionó anteriormente, en este estudio exploraremos la viabilidad de biofortificar el cultivo de frijol con el uso de NPs ZnO utilizando como matriz suelo calcáreo.

### **2.3 Absorción de nanofertilizantes en las plantas**

Actualmente, el tema de la absorción de las nanopartículas (NPs) a través de las raíces de las plantas aún es incierto. Una explicación importante es que la captación de las NPs y las micropartículas (MPs) por parte de las plantas se ve afectada por múltiples factores como el tamaño de las partículas, la funcionalización de la superficie, la morfología, las condiciones de exposición, el tipo de planta, la integridad de las raíces (daños o enfermedades) y los procesos de la rizosfera. Enseguida, este documento presenta la información actual relacionada con las características de las NPs y MPs, las especies de plantas, las condiciones de exposición, los métodos analíticos y los principales resultados sobre la captación y translocación de NPs y MPs metálicas a través de la raíz.

Las paredes celulares de las plantas son una matriz compleja que contiene una red de microfibrillas de celulosa reticuladas con hemicelulosa y lignina e impregnadas por pectina (Serag *et al.*, 2011). Con estas estructuras características, las paredes celulares epidérmicas de la raíz restringen el paso de grandes agregados o aglomerados de NPs y MPs. En este caso, los aglomerados son conjuntos de partículas que podrían fracturarse por fuerzas considerables, mientras que los agregados son un patrón más definido de estructuras de prenucleación (Nichols *et al.*, 2002). Los poros de la pared celular se estima que tienen tamaños en un rango de 5 a 20 nm (Tepfer y Taylor, 1981); los grupos más pequeños o las partículas individuales podrían difundirse a través de los poros y entrar en el flujo apoplástico y/o simplástico. En algunos casos, la absorción extensa de NPs en las superficies de las raíces puede causar daños estructurales y comprometer la integridad de las células. Además, los nanotubos de carbono pueden perforar físicamente las paredes celulares de la raíz y la epidermis, alterando físicamente los tejidos de manera que puede facilitar la entrada de NPs en el citoplasma celular (Wild y Jones, 2009).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Material genético**

Las semillas de acelga fueron proporcionadas por el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

#### **3.2 Fertilizantes utilizados**

Las nanopartículas metálicas de óxido de Zn (NPs ZnO) y el sulfato de zinc se adquirieron en Sigma-Aldrich (San Luis, Misuri, USA), mientras que las nanopartículas orgánicas de ZnO (GNPs ZnO) se sintetizaron por química verde. Las micrografías TEM y HRTEM se procesaron por medio del software de transformación rápida de Fourier (Digital Micrograph 3.7.0, Gatan Software, Pleasanton, CA, USA).

#### **3.3 Condiciones de crecimiento y diseño experimental de siembra**

El experimento se estableció en un invernadero de baja tecnología, con una temperatura media diaria de 25.4 °C y una humedad relativa del 73.3%. Las semillas de acelga se sembraron en el suelo modificado con las fuentes de Zn, que fue colocado en macetas de plástico con capacidad de 18 lts, se asignaron cinco repeticiones por tratamiento en un diseño completamente aleatorio, junto con el control (suelo sin compuestos a base de Zn), colocando cuatro semillas de acelga en cada maceta. El cultivo se desarrolló durante 45 días, y para los riegos se aplicaron 75 mL diarios de solución nutritiva (sin Zn), empleando la formulación comercial de macronutrientes (FertiDrip N11-P02-K42) en agua desionizada DI, con un pH 6.47 y conductividad eléctrica de 0.41  $\mu\text{S cm}^{-1}$ , en cantidades iguales para cada maceta, siguiendo la recomendación del fabricante (AGROformuladora Delta, Monterrey, NL, Mex).

### **3.4 Cosecha y análisis de minerales**

Las plantas de acelga se cultivaron durante 45 días en los tratamientos señalados anteriormente. El peso seco de raíz (PSR) y área foliar (AF) se registraron para cada planta. El área foliar total se midió con un medidor de área LI-3100C (LICOR Biosciences, Lincoln, NE). De la cantidad total de materia seca acumulada en cada planta, la mitad fue procesada en digestión ácida para llevar a cabo el análisis elemental, y el resto fue congelado a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  para análisis de pigmentos fotosintéticos. Para el análisis de minerales de N, y Zn, 0.2 g tejido vegetal (raíces y brotes) se secaron a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  en un horno Yamato Scientific DX 602C (Santa Clara, California, USA) durante 72 h. El material resultante fue triturado y sometido a digestión ácida en una mezcla de ácido perclórico y ácido nítrico (Alcántar y Sandoval, 1999). El N se cuantificó por el método micro Kjendahl según la metodología de Bremner (1965). Las determinaciones de las concentraciones de Zn se llevaron a cabo utilizando el extracto de digestión ácida mediante un espectrómetro ICP-AES Agilent 725-ES de emisión atómica de inducción de plasma acoplado (Santa Clara, California, USA).

### **3.5 Análisis estadístico**

El cultivo se estableció utilizando un diseño completamente aleatorio, la unidad experimental consistió en una maceta de plástico que contenían cuatro plantas de acelga. Los resultados se informaron como media  $\pm$  desviación estándar, las diferencias estadísticamente significativas entre las muestras se analizaron con un ANOVA y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) utilizando el paquete estadístico SPSS versión 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Área foliar y absorción de minerales

El desarrollo de área foliar se cuantificó en plantas de acelga tratadas con nanopartículas metálicas de óxido de Zn (ZnO NPs), sulfato de Zn (ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O) y nanopartículas verdes de óxido de Zn (ZnO GNPs), después de un periodo de 75 días. Los resultados indican que el área foliar de las concentraciones con ZnSO<sub>4</sub> se obtuvo un valor medio de 1683.07 cm<sup>2</sup>, que fue significativamente mayor en 11.33, 27.61 y 30.58%, mientras que, en el peso seco de raíz, los incrementos del ZnSO<sub>4</sub> fueron de 31.75, 52.00 y 54.85% en comparación con el control, ZnO NPs y las ZnO GNPs, respectivamente. Los resultados mostraron diferencias notables en el crecimiento de la planta en función del tipo del compuesto de Zn. En este estudio el ZnSO<sub>4</sub> permitió un mejor crecimiento de las plantas, mientras que los tratamientos con nanopartículas generaron un impacto negativo, esto puede deberse a la absorción de nitrógeno (Figura 2), el cual se absorbió en mayor o menor medida en relación al tipo de fertilizante aplicado al suelo.

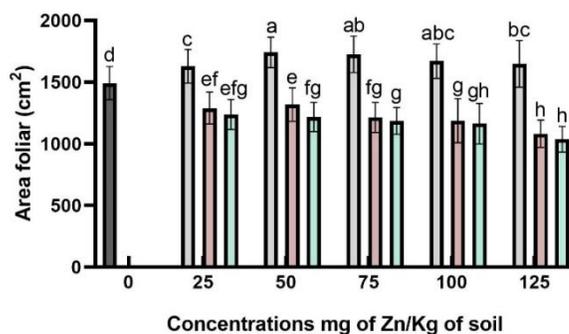


Figura 1. Área foliar (b) de plantas de acelga (*Beta vulgaris* var. cicla) cultivadas durante 74 días en suelo calcáreo modificado con ZnSO<sub>4</sub>, ZnO NPs y ZnO GNPs a concentraciones de 0, 25, 50, 75, 100 y 125 mg de Zn kg<sup>-1</sup> de suelo. Los valores son el promedio de cinco repeticiones, medias (n=5). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los tratamientos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, p≤0.05).

## 4.2 Absorción de Zn y nitrógeno por la raíz

Los resultados del análisis del contenido de minerales (N y Zn) revelaron que los cambios en la composición elemental de las raíces de acelga están relacionados con los compuestos de zinc aplicados al suelo (Figura 2) En el tratamiento con  $ZnSO_4$ , el % de N aumentó 38.52%, mientras que ambas NPs ( $ZnO$  NPs,  $ZnO$  GNPs) disminuyeron en 42.66 y 45.33%, comparados al control (Figura 2a). El Zn mostró una absorción positiva en la raíz para todos los tratamientos, 66.89% en  $ZnSO_4$ , 45.51% en NPs  $ZnO$  y 44.19% GNPs  $ZnO$ , donde la aplicación de Zn a 125 mg de  $Zn\ kg^{-1}$  de suelo mostró los mayores incrementos (Figura 2b).

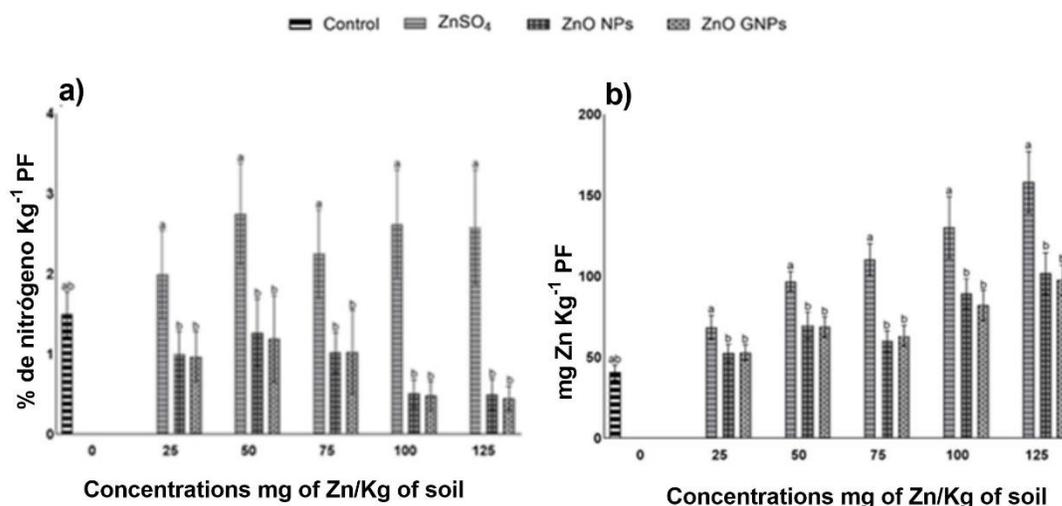


Figura 2. % de N  $kg^{-1}$  PF (a) y Mg de Z  $kg^{-1}$  PF (b) en raíces de plantas de acelga (*Beta vulgaris* var. cicla) cultivadas durante 74 días en suelo calcáreo modificado con  $ZnSO_4$ ,  $ZnO$  NPs y  $ZnO$  GNPs a concentraciones de 0, 25, 50, 75, 100 y 125 mg de  $Zn\ kg^{-1}$  de suelo. Los valores son el promedio de cinco repeticiones, medias ( $n = 5$ ). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los tratamientos fueron estadísticamente diferentes (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

## 4.3 Absorción de Zn y nitrógeno por la hoja

En cuanto a la absorción de N y Zn por la hoja, se presentó la misma tendencia que en la raíz (Figura 3). El % de N aumentó 22.01% en  $ZnSO_4$ , mientras que en  $ZnO$  NPs disminuyó 12.04 y 15.64% en  $ZnO$  GNPs. Sin embargo, los niveles de Zn aumentaron en todos los tratamientos, aunque los mayores incrementos fueron con  $ZnSO_4$  (71.86%), las  $ZnO$  NPs y GNPs presentaron incrementos de 35.98 y 38.65% en promedio. El mejor comportamiento

de las NPs se mostró a 50 mg de Zn kg<sup>-1</sup> de suelo, mientras que el ZnSO<sub>4</sub> fue a 125 mg de Zn kg<sup>-1</sup>.

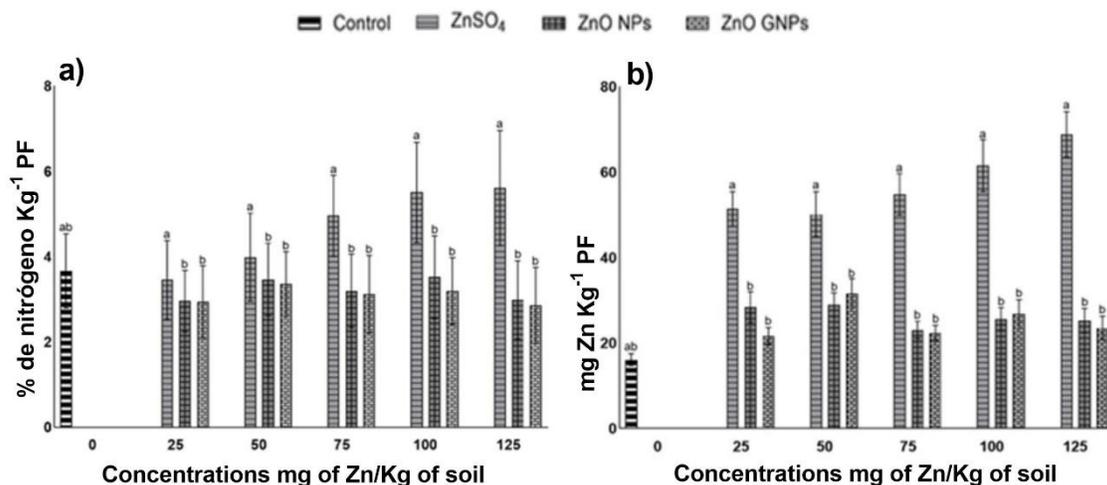


Figura 3. % de N kg<sup>-1</sup> PF (a) y Mg de Z kg<sup>-1</sup> PF (b) en hojas de plantas de acelga (*Beta vulgaris* var. cicla) cultivadas durante 74 días en suelo calcáreo modificado con ZnSO<sub>4</sub>, ZnO NPs y ZnO GNPs a concentraciones de 0, 25, 50, 75, 100 y 125 mg de Zn kg<sup>-1</sup> de suelo. Los valores son el promedio de cinco repeticiones, medias (n = 5). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los tratamientos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, p ≤ 0.05).

En cuanto a la explicación de los resultados, podemos mencionar que la mayor translocación de Zn de la raíz al brote con la aplicación de ZnSO<sub>4</sub> (ion Zn<sup>++</sup>), en comparación con las NPs ZnO, se debe probablemente a la alta solubilidad del ZnSO<sub>4</sub> (aproximadamente 2650 μmol L<sup>-1</sup>), que es mucho mayor que la solubilidad que tienen las NPs ZnO (786 μmol L<sup>-1</sup>), que presentan disponibilidad lenta y gradual del Zn disuelto (Reed *et al.*, 2012; García-López *et al.*, 2019). Por lo tanto, al utilizar ZnSO<sub>4</sub> como fuente de fertilizante, se obtiene una mayor disponibilidad de Zn disponible para las raíces de las plantas a partir de esta fuente. Esto indica que el efecto y la absorción de los fertilizantes a base de Zn depende de la disolución del elemento en la superficie de la raíz, y la utilización del mineral activo disponible para el transporte ascendente en los haces vasculares.

En contraparte, Prasad *et al.* (2012) mencionaron que las NPs ZnO son absorbidas por las plantas en mayor medida en comparación con ZnSO<sub>4</sub>, debido a una mayor biodisponibilidad por su tamaño y menor solubilidad en agua. Comprobando, que en plantas de mani la

aplicación de 1000 mg L<sup>-1</sup> con NPs ZnO demostró ser más efectiva para aumentar el crecimiento y rendimiento de la vaina en 34%, en comparación con el ZnSO<sub>4</sub>, pero a mayor concentración (2000 mg L<sup>-1</sup>) las NPs ZnO fueron perjudiciales. Este reporte indica que el medio de aplicación de los nanofertilizantes, también condiciona su eficiencia de absorción en los tejidos de las plantas.

Por ejemplo, La efectividad del ZnSO<sub>4</sub> por aplicación foliar es baja, debido a que es altamente soluble y permite que se lixivie rápidamente (Fageria *et al.*, 2002), afectando la disponibilidad de los nutrientes. Los iones que son altamente solubles en agua pueden tener algún obstáculo para penetrar la cutícula lipófila, resultando como un factor limitante en el caso del ZnSO<sub>4</sub> (Prasad *et al.*, 2012). En contra parte, se ha demostrado que las NPs entran en las células a través del sistema estomático o vascular (Raliya and Tarafdar, 2013; Wang *et al.*, 2013) determinado por la especificación del rango de tamaño de las partículas de ZnO. Esto permite concluir que en aplicaciones foliares las sales de Zn son menos eficientes que las NPs.

Por otra parte, en este estudio la reducción en el área foliar de la planta podría deberse al mayor impacto negativo de las NPs ZnO al ser aplicadas al suelo, ya que contribuyen a aumentar la retención de iones en el suelo por intercambio iónico como por adsorción específica, lo que limita la absorción de macronutrientes como el N (Figura 2 y 3), y por ende una disminución en el crecimiento de las plantas debido a que este nutriente es necesario en la síntesis de la clorofila y como parte de la molécula de la misma, la cual es la protagonista en el proceso de fotosíntesis.

Además del N, el Zn es un micronutriente esencial para las plantas, generalmente se absorbe como un catión divalente (Zn<sup>++</sup>), que es requerido en la biosíntesis de proteínas y el metabolismo de los carbohidratos (Sadeghzadeh y Rengel, 2011). Por lo tanto, niveles deficientes de Zn y N en plantas pueden generar una reducción del contenido de clorofila y menor potencial agronómico en los cultivos. El contenido de clorofila se ha clasificado como un indicador confiable en relación con el tema de crecimiento y rendimiento en plantas

(Tirani et al., 2018). Esto explica, el por qué las plantas sometidas a nanofertilizantes absorbieron menor N y Zn, lo que resultó en menor acumulación de biomasa foliar.

## 5. CONCLUSIONES

Los resultados mostraron diferencias notables en el crecimiento de la planta en función del tipo del compuesto de Zn, las plantas cultivadas en suelo modificado con  $ZnSO_4$  presentaron mayor desarrollo de área foliar en comparación con sus contrapartes.

El menor desarrollo de área foliar en las plantas cultivadas con nanofertilizantes, puede deberse a la absorción de N y Zn, los cuáles se absorbieron en menor medida en relación al tipo de fertilizante aplicado al suelo.

## 6. REFERENCIAS

- Acharya, P., Jayaprakasha, G. K., Crosby, K. M., Jifon, J. L., and Patil, B. S. 2020. Nanoparticle-mediated seed priming improves germination, growth, yield, and quality of watermelons (*Citrullus lanatus*) at multi-locations in Texas. *Scientific reports*, 10(1), 5037.
- Adisa, I. O., Pullagurala, V. L. R., Peralta-Videa, J. R., Dimkpa, C. O., Elmer, W. H., Gardea-Torresdey, J. L., and White, J. C. 2019. Recent advances in nano-enabled fertilizers and pesticides: a critical review of mechanisms of action. *Environmental Science: Nano*, 6(7), 2002-2030.
- Alcántar, G.G.; Sandoval, V.M. *Handbook Chemical Analysis of Vegetal Tissue*; Especial Publication, No.10; Mexican Society of Soil Science: Chapingo, Mexico, 1999.
- Cakmak, I. E. 2012. Zinc for the improvement of crop production and human health. *Plant and Soil*, 361, 1-2.
- Cakmak, I., and Kutman, U. Á. 2018. Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European journal of soil science*, 69(1), 172-180.
- Deng, C., Wang, Y., Cota-Ruiz, K., Reyes, A., Sun, Y., Peralta-Videa, J., and Gardea-Torresdey, J. 2020. Bok choy (*Brassica rapa*) grown in copper oxide nanoparticles-amended soils exhibits toxicity in a phenotype-dependent manner: Translocation, biodistribution and nutritional disturbance. *Journal of Hazardous Materials*, 398, 122978.
- El-Ramady, H., Elmhdy, S., Awad, A., Nassar, S., Osman, O., Metwally, E., and El-Henawy, A. 2021. Is nano-biofortification the right approach for malnutrition in the era of COVID-19 and climate change?. *Egyptian Journal of Soil Science*, 61(2), 161-174.
- Fageria, N. K., Baligar, V. C., and Clark, R. B. 2002. Micronutrients in crop production. *Advances in agronomy*, 77, 185-268.
- Farooq, M., Usman, M., Nadeem, F., Rehman, H., Wahid, A., Basra, S. M. A. 2019. Seed priming in field crops: potential benefits, adoption and challenges. *Crop Pasture Sci.* 70, 731–771.
- García-López, J. I., Niño-Medina, G., Olivares-Sáenz, E., Lira-Saldivar, R. H., Barriga-Castro, E. D., Vázquez-Alvarado, R., and Zavala-García, F. 2019. Foliar application of zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate boosts the content of bioactive compounds in habanero peppers. *Plants*, 8(8), 254.

- Garg, M., Sharma, N., Sharma, S., Kapoor, P., Kumar, A., Chunduri, V., and Arora, P. 2018. Biofortified crops generated by breeding, agronomy, and transgenic approaches are improving lives of millions of people around the world. *Frontiers in Nutrition*, 12.
- Gupta, S., Brazier, A. K. M., Lowe, N. M. 2020. Zinc deficiency in low- and middle-income countries: prevalence and approaches for mitigation. *J. Hum. Nutr. Dietetics* 33, 624–643.
- Kah, M., Kookana, R. S., Gogos, A., and Bucheli, T. D. 2018. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. *Nature nanotechnology*, 13(8), 677-684.
- Kruger, D. J., Greenberg, E., Murphy, J. B., DiFazio, L. A., Youra, K. R. 2014. Local concentration of fast-food outlets is associated with poor nutrition and obesity. *Am. J. Health Promotion* 28, 340–343.
- Marques, E., Darby, H. M., Kraft, J. 2021. Benefits and limitations of non-transgenic micronutrient biofortification approaches. *Agronomy* 11, 464.
- Martínez, G., Merinero, M., Pérez-Aranda, M., Pérez-Soriano, E. M., Ortiz, T., Villamor, E., and Alcudia, A. 2020. Environmental impact of nanoparticles' application as an emerging technology: A review. *Materials*, 14(1), 166.
- Nestel, P., Bouis, H. E., Meenakshi, J. V., and Pfeiffer, W. 2006. Biofortification of staple food crops. *The Journal of nutrition*, 136(4), 1064-1067.
- Noulas, C., Tziouvalekas, M., and Karyotis, T. 2018. Zinc in soils, water and food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 49, 252-260.
- Poudel, P., Di Gioia, F., Lambert, J. D., and Connolly, E. L. 2023. Zinc biofortification through seed nutri-priming using alternative zinc sources and concentration levels in pea and sunflower crogreens. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1177844.
- Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of plant nutrition*, 35(6), 905-927.
- Ragab, G. A., and Saad-Allah, K. M. 2020. Green synthesis of sulfur nanoparticles using *Ocimum basilicum* leaves and its prospective effect on manganese-stressed *Helianthus annuus* (L.) seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191, 110242.
- Raliya, R., and Tarafdar, J. C. 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in Clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Agricultural Research*, 2, 48-57.

- Ramapuram, R., Sumathi, V., Prasad, T. N., Sudhakar, P., Chandrika, V., and Ravindra Reddy, B. 2018. Unprecedented synergistic effects of nanoscale nutrients on growth, productivity of sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], and nutrient biofortification. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(5), 1075-1084.
- Rawat, P. S., Kumar, R., Ram, P., and Pandey, P. 2018. Effect of nanoparticles on wheat seed germination and seedling growth. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 12(1), 13-16.
- Reed, R. B., Ladner, D. A., Higgins, C. P., Westerhoff, P., and Ranville, J. F. 2012. Solubility of nano-zinc oxide in environmentally and biologically important matrices. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(1), 93-99.
- Ruiz-Torres, N., Flores-Naveda, A., Barriga-Castro, E. D., Camposeco-Montejo, N., Ramírez-Barrón, S., Borrego-Escalante, F., and García-López, J. I. 2021. Zinc oxide nanoparticles and zinc sulfate impact physiological parameters and boosts lipid peroxidation in soil grown coriander plants (*Coriandrum sativum*). *Molecules*, 26(7), 1998.
- Sadeghzadeh, B., and Rengel, Z. 2011. Zinc in soils and crop nutrition. The molecular and physiological basis of nutrient use efficiency in crops, 335-375.
- Serag, M.F., Kaji, N. Gaillard, C. Okamoto, Y. Terasaka, K. Jabasini. 2011. Trafficking and subcellular localization of multiwalled carbon nanotubes in plant cells. *ACS Nano* 5:493-9.
- Tirani, M., Madadkar-Haghjou, M., Sulieman, S., and Ismaili, A. 2018. Comparative evaluation of zinc oxide effects on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) grown in different media. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20(4), 787-802.
- Wang, P., Menzies, N. W., Lombi, E., McKenna, B. A., Johannessen, B., Glover, C. J., and Kopittke, P. M. 2013. Fate of ZnO nanoparticles in soils and cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental science and technology*, 47(23), 13822-13830.
- Wild, E. and Jones, K.C. 2009. Novel method for the direct visualization of in vivo nanomaterials and chemical interactions in plants. *Environ Sci Technol* 43:5290-4.
- Zhiyuan, Z., Sun, H., Du, W., Li, R., Mao, H., and Kopittke, P. M. 2021. Interaction of different-sized ZnO nanoparticles with maize (*Zea mays*): Accumulation, biotransformation and phytotoxicity. *Science of the Total Environment*, 796, 148927.