

La biofortificación con nanopartículas de óxido de zinc vía foliar aumenta la acumulación de biomasa y calidad fitoquímica de la lechuga

Manuel Fortis-Hernández¹, Alberto Sánchez-Estrada^{2,*}, Deniss Hernández-Cruz¹, Erika Lagunes-Fortiz³, Rebeca Betancour-Galindo⁴ y Judith Fortiz-Hernández²

¹ División de Estudios de Postgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México. Campus Instituto Tecnológico de Torreón, Carretera Torreón, San Pedro km 7,5; Ejido Ana. 27170 Torreón, Coahuila, México.

² Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.), Gustavo Enrique Astiazarán Rosas No. 46. 83304 Hermosillo, Sonora, México.

³ Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km 38,5. 56230 Chapingo, Texcoco, Edo de México, México.

⁴ Centro de Investigación en Química Aplicada. Enrique Reyna H. 140. 25294 San José de los Cerritos, Saltillo, Coahuila, México.

Resumen

La prevalencia de la deficiencia de zinc en el mundo es un problema de salud pública, principalmente en países en desarrollo, la biofortificación de cultivos mediante nanopartículas de zinc podría ser un método eficaz para reducir las deficiencias nutricionales en la población deficitaria, además de incrementar el rendimiento, mejora la calidad fitoquímica y comercial de los cultivos. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) sobre la concentración de Zn, compuestos fitoquímicos y acumulación de biomasa en lechugas producidas hidropónicamente. Se evaluaron seis tratamientos (0; 1,5; 3,0; 3,5; 4,5; 6,0 y 7,5 mg L⁻¹ NPsZnO) con cinco repeticiones y tres aplicaciones bajo un diseño experimental completamente al azar. Se midieron variables morfométricas y acumulación de biomasa de las plantas (altura de la planta, diámetro de la corona, peso fresco y seco de raíces y hojas, volumen y longitud de raíces), así como variables de calidad fitoquímica como fenoles, flavonoides, capacidad antioxidante, vitamina C, clorofila, carotenoides y contenido de zinc foliar. Los valores de las variables morfométricas, acumulación de biomasa y concentración de zinc aumentaron proporcionalmente con el incremento de la concentración aplicada de NPsZnO. Este incremento se reflejó en un mayor tamaño, peso y calidad de las lechugas tratadas en comparación con las no tratadas. También se observó que a mayor concentración de NPsZnO aplicada mayor aumento de la capacidad antioxidante y la vitamina C.

Palabras clave: *Lactuca sativa* L., biomasa fresca y seca, compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides, clorofila.

* Autor para correspondencia: aestrada@ciad.mx

Cita del artículo: Fortis-Hernández M., Sánchez-Estrada A., Hernández-Cruz D., Lagunes-Fortiz E., Betancour-Galindo R., Fortiz-Hernández J. (en prensa). La biofortificación con nanopartículas de óxido de zinc vía foliar aumenta la acumulación de biomasa y calidad fitoquímica de la lechuga. ITEA-Información Técnica Económica Agraria. Vol. xx: 1-16. <https://doi.org/10.12706/itea.2024.009>



Biofortification with zinc oxide nanoparticles via foliar increases biomass accumulation and lettuce phytochemical quality

Abstract

The prevalence of zinc deficiency in the world is a public health problem, mainly in developing countries; the biofortification of crops using zinc nanoparticles could be an effective method to reduce nutritional deficiencies in the deficient population, in addition to increasing yield, improving the phytochemical and commercial quality of crops. In this sense, this work aimed to evaluate the foliar application of zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) on the concentration of Zn, phytochemical compounds, and biomass accumulation in hydroponically produced lettuce. Six treatments (0, 1.5, 3.0, 3.5, 4.5, 6.0, and 7.5 mg L⁻¹ ZnONPs) were evaluated with five repetitions and three applications under a completely randomized experimental design. Morphometric variables and plant biomass accumulation were measured (plant height, crown diameter, fresh and dry weight of roots and leaves, root volume and length), as well as phytochemical quality variables such as phenols, flavonoids, capacity antioxidant, vitamin C, chlorophyll, carotenoids, and leaf zinc content. The dimensions of the morphometric variables, biomass accumulation, and zinc concentration increased proportionally with the increase in the concentration of ZnONPs applied. This increase was reflected in the greater size, weight, and quality of the treated lettuces compared to the untreated ones. It was also observed that a higher concentration of ZnONPs applied greater the increase in antioxidant capacity and vitamin C.

Keywords: *Lactuca sativa* L., fresh and dry biomass, phenolics compounds, flavonoids, carotenoids, chlorophyll.

Introducción

El zinc (Zn) es un micronutriente necesario porque participa en una serie de procesos metabólicos durante el desarrollo de las plantas. El Zn es un nutrimento esencial en la síntesis de triptófano (Brown *et al.*, 1993; Alloway, 2008), precursor de la biosíntesis de auxinas (Tsonev y Cebola-Lidon, 2012) y como cofactor en la estructura y función de numerosas proteínas (Broadley *et al.*, 2007).

La enmienda con Zn directamente al suelo o impregnación de semillas son métodos de aplicación comúnmente usados, sin embargo, este elemento se inmoviliza fácilmente en el suelo tornándolo mayoritariamente insoluble y no fitodisponible (Broadley *et al.*, 2007). Por lo tanto, los fertilizantes tradicionales se desperdician y contribuyen a la contaminación. Esto nos obliga a explorar enfoques novedosos para garantizar la aplicación adecuada de fertilizantes en la dosis, momento correcto, y de manera disponible, sin causar problemas ambientales (Mathpal *et al.*, 2015).

Tradicionalmente la nutrición vegetal se ha complementado a través de la fertilización foliar (Fernández y Eichert, 2009; Bindraban *et al.*, 2015), e implica absorción, penetración tanto estomática como cuticular además de la difusión dentro de la hoja; finalmente, los nutrientes se translocan a los órganos diana para realizar su función (Fernández *et al.*, 2015). La fertilización foliar puede aumentar la absorción de nutrientes de forma más rápida y eficiente, minimizando el impacto ambiental con el potencial beneficio en la salud del consumidor (Otálora *et al.*, 2018). La fertilización foliar es la forma más eficaz de aumentar las concentraciones de Zn en los tejidos vegetales (White y Broadley, 2011).

Sin embargo, la fertilización foliar tiene el desafío de atravesar la cutícula y los estomas, posteriormente es transportada vía apoplasto a los órganos diana, pero debido al tamaño de las partículas y la inmovilización provoca la formación de compuestos insolubles de algunos micronutrientes (Niu *et al.*, 2021). Actualmente, el uso de nanopartículas en la

producción agrícola como los nanofertilizantes foliares (Subramanian *et al.*, 2015) son una opción viable que proporciona beneficios directos de manera controlada, reduce el riesgo de fitotoxicidad (Mahapatra *et al.*, 2022) y además toma ventaja sobre los fertilizantes foliares convencionales debido al tamaño de los solutos que superan el diámetro de los poros de los estomas, dificultando la absorción y movimiento de los micronutrientes (Kardos *et al.*, 2015), y su aplicación en la agricultura tiene el potencial de lograr un equilibrio y alimentos altamente nutritivos (Zia-Butt y Naseer, 2020).

Desde un punto de vista nutricional, el Zn tiene un papel muy importante en la salud humana. En este sentido la falta de Zn puede provocar un deterioro del sistema inmunológico, menor crecimiento de los niños y problemas de fertilidad (Levenson y Morris, 2011). Actualmente, la deficiencia de Zn es un problema global, especialmente en los países emergentes (Maxfield, 2022). Por este motivo, la suplementación con zinc podría ayudar a combatir tales deficiencias (Gač *et al.*, 2021). El uso de nanopartículas (NP) híbridas orgánico-metálicas para mejorar el contenido de Zn en las plantas (Bouis y Saltzman, 2017) conocido como biofortificación podría ser una alternativa para minimizar el déficit de Zn en la población vulnerable.

La biofortificación de los cultivos utilizando nanopartículas (NP) proporciona una opción económica para abordar los problemas de deficiencia de micronutrientes (Younas *et al.*, 2023), a corto plazo puede mejorar la composición mineral de los alimentos (Bouis, 2007), especialmente hortalizas de hoja verde como la lechuga, cuya susceptibilidad a la biofortificación se ha demostrado con resultados positivos, con el extra de mejorar la calidad fitoquímica al estimular la biosíntesis de compuestos que conforman el sistema antioxidante de los vegetales (Fortis-Hernández *et al.*, 2022).

Debido a lo anterior, este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto sobre la acumulación de biomasa, incremento en la concentración de fitoquímicos y cuantificar la concentración de Zn en hojas de lechuga tratadas con NPsZnO como biofortificante y producidas bajo un sistema hidropónico.

Material y métodos

Lugar del experimento, material vegetal y tratamientos

El experimento se llevó a cabo durante la estación otoño-invierno dentro de una estructura tipo invernadero provisto de una malla antiáfidos de color blanco con una altura de 2,50 m ubicada en el municipio de Torreón, Coahuila, México entre las coordenadas 25° 36' 37" LN y 103° 22' 33" LW y 1150 m s.n.m. Las condiciones internas de humedad relativa y temperatura interna fueron del 70 % y 22 °C, respectivamente. En un sistema hidropónico provisto de una tubería de PVC (Policloruro de Vinilo) de 3 pulgadas de diámetro colocada en pendiente del 10 % y separaciones entre orificios de 20 cm se colocaron plántulas de lechuga.

Semillas de lechuga "romana" (*Lactuca sativa* L.) tipo hoja verde (Verde Vita®) de ciclo medio (80 a 90 días) se sembraron en foami agrícola (espuma fenólica). Cuando las plántulas presentaron de 6 a 7 hojas verdaderas se trasplantaron, colocando una planta en cada cavidad de los tubos de PVC. Las necesidades nutricionales de las lechugas se cubrieron con la solución nutritiva de Steiner (1961), adaptando las cantidades a los requerimientos según el estado fenológico, con un pH que oscilaba entre 5,5-6 y una conductividad eléctrica de 1,5-2,0 dS m⁻¹. Brevemente, la solución de Steiner modificada se preparó con la siguiente formulación: I) cationes (mmol L⁻¹): Ca²⁺ (1,49); Mg²⁺ (106); K⁺ (11,55). II) cationes (g L⁻¹) Fe (0,005); Mn (0,0025); Zn (0,0005); B

(0,0005); Cu (0,0025); Mg (0,003) y Mo (0,0005); y III) aniones (mmol L^{-1}): NO_3^- (11,95); $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$ (1,02); SO_4^{2-} (1,2).

Las NPsZnO se produjeron según la metodología modificada de Ramírez-Barrón et al. (2019). Brevemente, se calentó una solución de acetato de zinc $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Zn}$ disuelto en etanol hasta 80 °C durante 3 h en un reactor. Posteriormente se vertió una solución de NaOH y se mantuvo en agitación durante 1 h para precipitar las nanopartículas. El material decantado se lavó con agua destilada varias veces para determinar el tamaño de partícula

la y caracterizaron mediante microscopía electrónica de transmisión (MET). El tamaño de las NPsZnO osciló entre 20 y 60 nm, con una pureza del 97 %, un color blanco y una forma estructural hemisférica y poligonal.

Las NPsZnO se mezclaron con surfactante no iónico INEX-A, considerando los seis tratamientos y cinco réplicas (Tabla 1). Las NPsZnO se aplicaron inicialmente 15 días después del trasplante y posteriormente cada 15 días durante la mañana, con un pulverizador equipado con una boquilla con un chorro de 0,14 mL por inyección.

Tabla 1. Concentración de NPsZnO aplicada en lechugas producidas bajo un sistema hidropónico.
Table 1. Concentration of NPsZnO applied to lettuce produced under a hydroponic system.

Tratamientos	NPsZnO (mg L^{-1})	Número de aplicaciones	Concentración acumulada (mg L^{-1})
T0 (Testigo)	H_2O	3	0,0
T1	1,5	3	4,5
T2	3,0	3	9,0
T3	4,5	3	13,5
T4	6,0	3	18,0
T5	7,5	3	22,5

Para las determinaciones de las variables se cosecharon cinco plantas por tratamiento a las que se le midió la altura de planta (AP), diámetro de corona (DC), volumen (VR) y longitud de raíces (LR), además de la acumulación de biomasa vegetal por medio del peso fresco (PFC) y seco de cabeza (PSC), peso fresco (PFR) y seco de la raíz (PSR); dentro de los parámetros fisiológicos se analizaron el índice de cosecha (IC), coeficiente alometría (raíz-brote) (CA), clorofila total, a y b (CIT, Cla y Clb) y carotenoides totales (CarT); mientras que la calidad fitoquímica se evaluó por me-

dio de la acumulación de compuestos fenólicos y flavonoides totales, zinc, vitamina C y capacidad antioxidante en el tejido vegetal.

Morfometría vegetal: Altura de planta (AP), diámetro de corona (DC), volumen de raíces (VR) y longitud (LR)

En lechugas cosechadas, se tomaron muestras de las hojas más internas para medir la AP. La lectura se tomó desde el cuello de la raíz hasta el ápice de la hoja, con una regla (Maped Colleged®, México) graduada en

centímetros (cm). Se utilizó una cinta métrica adaptada para medir el DC (cm) en cada una de las réplicas evaluadas.

En el momento de la cosecha, las raíces se cortaron y se midieron desde el cuello de la raíz hasta la cofia con una cinta métrica graduada (cm). El VR se evaluó por el método del desplazamiento (mL).

Acumulación de biomasa vegetal y parámetros fisiológicos: Peso fresco de cabeza (PFC) y seco (PSC), peso fresco de raíz (PFR) y peso seco (PSR), índice de cosecha (IC) y coeficiente alométrico raíz-brote (CA)

En lechuga cosechadas, el peso fresco (PFC) y el peso seco (PSC) de la cabeza, el peso fresco (PFR) y el peso seco de la raíz (PSR) se midieron en una balanza digital (Truper base-5EP modelo 3V cc). Luego de determinar el peso fresco, las hojas y raíces se secaron en estufa (Memmert Maca modelo W02WVU), durante 24 h a 75 °C. El índice de cosecha (IC) se determinó con la ecuación (Abdel-Aziz et al., 2016):

$$IC = \frac{PSC + PSR}{PSC \times 100} \quad [1]$$

Mientras que el coeficiente de alometría raíz-brote (CA) se calculó mediante la ecuación (Poorter et al., 2012):

$$CA = \frac{PSR}{PSC} \quad [2]$$

Fitoquímicos: Contenido total de clorofila (CIT), clorofila a (Cla) y clorofila b (Clb)

El contenido de clorofila se analizó según el método modificado de Liu et al. (2013). Brevemente, se homogeneizaron 0,5 g de tejido fresco de las hojas más internas en 10 mL de etanol frío al 95 % (J.T. Baker). El homogeni-

zado se centrifugó (Thermo Scientific SR 8) a 1500g durante 20 min. Posteriormente, al sobrenadante se le midió la absorbancia con un espectrómetro (Hach 6500, Alemania) a 665 (A665) y 649 (A649) nm. El contenido de clorofila se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} Cl_a &= (1395A)_{665} - (6,88A)_{649} \\ Cl_b &= (24,95A)_{649} - (7,32A)_{665} \\ CIT &= Cl_a + Cl_b \end{aligned} \quad [3]$$

Contenido de Cl (mg g⁻¹ pf) =

$$= \frac{CIT \text{ (mL)} \times (\text{factor de dilución})}{\text{peso fresco (g)}} \quad [4]$$

Contenido total de carotenoides (Tcar)

Los carotenoides totales se determinaron mediante el método modificado de De Carvalho et al. (2012). Brevemente, en 25 mL de acetona fría se molieron 15 g de muestra fresca hasta obtener una pasta homogénea, posteriormente se filtró y se le añadió 40 mL de éter de petróleo (J.T. Baker). En un embudo de separación se descartó la fase acuosa, mientras que 50 mL de la fase orgánica se pasó a través de 15 g de sulfato de sodio anhidro (Sigma Aldrich) en un embudo con papel filtro (Whatman No 4). El residuo obtenido se leyó en un espectrofotómetro (Hach 6500, Alemania) a una longitud de onda 450 nm. El contenido de Tcar se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$Tcar \text{ (}\mu\text{g g}^{-1}\text{ pf)} = \frac{(A \times V \text{ (mL)} \times 104)}{CE \times P \text{ (g)}} \quad [5]$$

Donde A = Absorbancia; V = Volumen total de extracto; P = peso fresco de la muestra; CE 1 cm (1 %) = 2592 (coeficiente de extinción del β-caroteno en éter de petróleo).

Concentración de zinc en tejido vegetal

Se utilizó la técnica de McKean (1993) con ligeras modificaciones. Para la determinación del contenido de zinc en hojas internas de lechuga muestreadas se trituraron 3 g de muestra de tejido vegetal seco (se incluyeron dos blancos y una muestra de referencia). Los crisoles con la muestra se colocaron en una mufla a 600 °C durante 4 h y luego se enfriaron a temperatura ambiente. Las cenizas enfriadas se mezclaron y digirieron con 10 mL de HCL (J.T. Baker). Posteriormente, las cenizas digeridas se filtraron a través de papel de filtro (Whatman No. 4). Las cenizas fueron lavadas y la concentración de zinc se determinó mediante absorción atómica en un equipo GBC XplorAA. Se realizó una curva estándar preparada con ZnO. Los resultados se expresaron en $\mu\text{g ZnO g}^{-1}$ pf.

Extracción de compuestos, contenido de compuestos fenólicos totales, contenido de flavonoides totales

Para obtener los extractos, se molieron 1,5 g de muestras frescas con 10 mL de etanol acuoso al 80 % (v/v) y se agitaron (agitador rotatorio, ATR Inc., EE. UU.) durante 24 h a 20 rpm a 5 °C. Los extractos se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 min y se tomó 1 mL de cada sobrenadante para desarrollar la reacción colorimétrica.

Los compuestos fenólicos se determinaron utilizando el método de Folin-Ciocalteu modificado (Singleton y Rossi, 1965). Una mezcla de 1,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St Louis MO, USA) diluido (1:1), 270 μL de agua destilada y 30 μL del ex-

tracto se dejó reaccionar durante 5 min en oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente se detuvo la reacción con 1,2 mL de Na_2CO_3 (7,5 % p/v). La absorbancia de la disolución fue medida a una longitud de onda de 765 nm en un espectrofotómetro UV (Genesys 10). Los resultados se registraron en mg de ácido gálico 100 g^{-1} PF utilizando una curva de calibración (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.).

Se utilizó la técnica de Lamaison y Carnet (1990) con ligeras modificaciones para determinar el contenido total de flavonoides. Brevemente, en un pool de disoluciones se mezclaron 250 μL de extracto etanólico; 1,25 mL de agua destilada y 75 μL de NaNO_2 al 5 %. Después de 5 min, se vertieron 150 μL de $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (10 %). Después de 10 min, se detuvo la reacción agregando 500 μL de NaOH 1 M y 2,75 mL de agua destilada. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro UV (Genesys 10) a 510 nm de longitud de onda. Se realizó una curva estándar preparada con quercetina. Los resultados se expresaron en mg de quercetina por 100 g^{-1} PF.

Contenido de vitamina C

El contenido de vitamina C en las hojas internas de lechuga se determinó mediante el método de titulación (Padayatty *et al.*, 2003). Se trituraron muestras frescas de 10 g con 10 mL de ácido clorhídrico al 2 %. Después de eso, las muestras se filtraron y se dividieron en alícuotas con 100 mL de agua destilada. Se tituló una alícuota de 10 mL con 2,6-diclorofenolindofenol 0.001 mN (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EE. UU.) y se calculó el contenido de vitamina C con la fórmula:

$$\text{Vit. C (mg } 100 \text{ g}^{-1}\text{PF)} = \frac{(\text{mL de 2,6 - Dicloroindofenol sódico})(0,088)(\text{volumen total})(100)}{(\text{volumen alícuota})(\text{peso fresco de la muestra})} \quad [6]$$

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se evaluó con el método de Brand-Williams *et al.* (1995) con ligeras modificaciones. Se preparó una disolución de DPPH⁺ (Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) y se ajustó a una longitud de onda de 515 nm.

Durante 30 min una disolución con 50 µL de extracto y 1950 µL de disolución de DPPH se dejó reaccionar. La absorbancia de la mezcla se midió a 517 nm con un espectrofotómetro UV (Genesys 10). Los resultados se reportaron como capacidad antioxidante equivalente en µM equivalente de Trolox 100 g⁻¹ de peso fresco calculado a partir de la curva estándar de trolox (Aldrich, St. Louis, Missouri, EE. UU.).

Análisis estadístico

El análisis de varianza (ANOVA) de los datos se analizó bajo un diseño completamente al azar con seis tratamientos y cinco repeticiones y las medias se compararon mediante el método DMS ($p \leq 0,05$) y se analizaron con el software estadístico SAS versión 9.3 (2009).

Resultados y discusión

El Zn es un elemento que desempeña diferentes funciones en el metabolismo de las plantas a través de diversos mecanismos. Por tanto, la fertilización con Zn, utilizando principalmente NPsZnO, provoca efectos benéficos en diferentes especies de plantas, lo cual está bien documentado (Sharifan *et al.*, 2019; Fortis-Hernández *et al.*, 2022; Szerement *et al.*, 2022). En el presente trabajo se verificaron los beneficios de las NPsZnO sobre diferentes variables morfométricas y de acumulación de biomasa de las lechugas producidas bajo un sistema hidropónico, debido al aumento de tamaño, rendimiento de biomasa de la cabeza y la raíz de lechuga. Los beneficios también se extienden al incremento de compuestos fitoquímicos.

Morfometría vegetal: Altura de planta (AP), diámetro de corona (DC), volumen (VR) y longitud de raíces (LR)

La Tabla 2 muestra las comparaciones de medias de AP, DC, VR y LR. Las aplicaciones de NPsZnO a diferentes niveles mostraron dife-

Tabla 2. Medias y desviación estándar de las variables morfométricas de lechugas tratadas con NPsZnO producidas bajo un sistema hidropónico.

Table 2. Means and standard deviation on the morphometric variables of lettuces treated with ZnONPs produced under a hydroponic system.

Tratamientos NPsZnO (mg L ⁻¹)	Altura de planta (AP) (cm)	Diámetro de la corona (DC) (cm)	Volumen de raíz (VR) (cm ³)	Longitud de raíz (LR) (cm)
T0	20,70 ± 0,83ab ¹	22,21 ± 1,86c	154,00 ± 37,81b	46,80 ± 5,84ab
T1	21,86 ± 1,32ab	31,89 ± 4,71ab	176,03 ± 50,29ab	53,80 ± 11,17a
T2	19,84 ± 1,01b	26,15 ± 5,71bc	164,02 ± 37,81ab	36,00 ± 7,24b
T3	22,70 ± 1,62ab	31,44 ± 4,53ab	190,00 ± 41,23ab	48,00 ± 2,34ab
T4	23,56 ± 1,71a	31,95 ± 2,62ab	206,00 ± 19,49a	46,00 ± 6,55ab
T5	22,70 ± 2,70ab	29,79 ± 5,01ab	170,00 ± 41,24ab	46,00 ± 6,81ab

¹Medias con diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0,05$).

rencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en cada variable de la morfometría de la planta. Los tratamientos con NPsZnO reportaron los valores más altos en DC y VR, mientras que en AP y LR solo T2 fue inferior a T0. LR mostró un comportamiento irregular con una diferencia del 13,02 % entre los valores más altos (T1) y los más bajos (T0, T4 y T5). En cambio, T4 mostró un 15 % en AP y 30 % en VR y DC mayor que T0.

Acumulación de biomasa vegetal y variables fisiológicas: Peso fresco (PFC) y peso seco de la cabeza (PSC), peso fresco (PFR) y peso seco de la raíz (PSR), índice de cosecha (IC) y coeficiente alométrico raíz-brote (CA)

Los resultados fueron estadísticamente diferentes ($p < 0,05$), los tratamientos con NPsZnO tuvieron valores superiores a T0 en cada una de las variables, específicamente en los tratamientos con mayores concentraciones de NPsZnO. En la variable PFC la diferencia fue más evidente porque T3 y T4 superaron a T0 en más del 100 %. El tratamiento T4 resultó en los valores más altos de PFC y PSC de 885 y 43,43 g, respectivamente. Mientras que el T3 presentó pesos de 192,88 g de PFR y 13,23 g de PSR. El mayor valor de CA lo obtuvo T0 con 0,39 %, mientras que los tratamientos con NPsZnO fluctuaron entre 0,29 % y 0,33 %; por el contrario, el valor de IC para T0 fue el más bajo con 72 % y los tratamientos con NPsZnO oscilaron entre 75 y 77 % (Tabla 3).

Los resultados demostraron que los valores de AP y DC superaron a los del mercado estándar (Pereira et al., 2023), mientras que los valores de VR y LR coincidieron con los reportados por Cometti et al. (2013) que aplicaron diferentes soluciones nutritivas enriquecidas con Zn.

En este sentido, los resultados de morfometría y acumulación de biomasa vegetal concuerdan con los trabajos en los que se ha su-

Tabla 3. Medias y desviación estándar de acumulación de biomasa de lechugas tratadas con NPsZnO producidas bajo un sistema hidropónico.

Table 3. Means and standard deviation on the accumulation of lettuce biomass treated with ZnONPs produced under a hydroponic system.

Tratamientos NPsZnO (mg L ⁻¹)	Peso fresco de la cabeza (PFC) (g)	Peso seco de la cabeza (PSC) (g)	Peso fresco de la raíz (PFR) (g)	Peso seco de la raíz (PSR) (g)	CA ²	IC ³ (%)
T0	365,8 ± 63,8c ¹	22,14 ± 4,5b	121,52 ± 11,4b	8,62 ± 1,5a	0,39	72
T1	662,4 ± 197,9ab	37,65 ± 19,9ab	164,70 ± 36,5ab	11,25 ± 2,5a	0,29	77
T2	563,4 ± 278,5bc	31,37 ± 14,6ab	142,36 ± 35,8ab	9,18 ± 2,6a	0,29	77
T3	781,1 ± 158,3ab	41,57 ± 11,7ab	192,88 ± 30,4ab	13,23 ± 3,9a	0,32	76
T4	885,0 ± 78,4a	43,43 ± 9,6a	188,88 ± 30,3a	12,72 ± 3,6a	0,29	77
T5	669,0 ± 201,0ab	33,65 ± 3,1ab	156,00 ± 39,2ab	11,37 ± 4,2a	0,33	75

¹Medias con diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0,05$). ²Coficiente de alometría. ³Índice de cosecha.

plementado Zn en diferentes niveles, formas y momentos tanto en lechuga (Liu et al., 2016; Fortis-Hernández et al., 2022), como en frijol mungo y garbanzo (Mahajan et al., 2011), arroz (Lal Regar et al., 2022) y maíz (Subbaiah et al., 2016), con la ventaja de menores concentraciones de Zn en forma de NPsZnO y mayor eficiencia en la asimilación y transporte (Shukla et al., 2016) sin riesgo fitotóxico (Reddy et al., 2016).

Lo anterior podría llevar a la participación del Zn, así como un precursor de la síntesis de aminoácidos (triptófano) y jugar un papel indirecto en la síntesis de auxinas (Mustafa et al., 2018), fitohormona que estimula la división y elongación celular, al igual que en la fotosíntesis en fase enzimática y en el metabolismo de carbohidratos (Ahmed et al., 2021), además de la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos requerida por el tejido meristemático (Gondal et al., 2021), así como el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares (Khalid et al., 2019), que en su conjunto participa en el desencadenamiento del crecimiento mediante la acumulación de biomasa. La estimulación de NPsZnO sobre la acumulación de biomasa tuvo un efecto tóxico, pero no exclusivo ya que las raíces también se beneficiaron, aunque en menor medida. El IC de las lechugas tratadas con NPsZnO fue entre un 2 y un 5 % mayor que el tratamiento control (Tabla 2), un beneficio demostrado por Haider et al. (2020) en frijol mungo y en maíz (Wasaya et al., 2017) cuando se aplicó Zn vía foliar en dosis de 1 y 5 %, respectivamente. Asimismo, el valor CA de T0 fue menor de 0,06 a 0,1 % respecto a los tratamientos. Moshfeghi et al. (2019) también reportaron que la cebada biofortificada con NPsZnO con y sin micorrizas disminuyó el CA debido al mayor efecto del Zn en la parte aérea que en las raíces.

Fitoquímicos: Clorofila total (CIT), clorofila a (Cla) y b (Clb), Contenido total de carotenoides (CarT) y concentración de zinc en tejido vegetal

La concentración de ZnONP aplicada influyó en los contenidos de clorofila y caroteno en las plantas de lechuga (Tabla 4). Hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) entre tratamientos en relación con el contenido de CIT, Cla, Clb, CarT y Zinc (Tabla 4).

Los contenidos de Cla y Clb mostraron un comportamiento inusual, debido a que hubo mayor contenido de Clb que de Cla (Tabla 4). El rango de CIT encontrado en este estudio estuvo entre 3,09 mg g⁻¹ PF para T0 y 4,02 mg g⁻¹ PF para T5. CarT osciló entre 1,52 y 1,96 mg g⁻¹ PF para los tratamientos con T0 y NPsZnO, respectivamente. Las proporciones Cla/Clb y CIT/CarT oscilaron entre 0,55 a 0,66 y 2,0 a 2,07, respectivamente sin una tendencia clara en términos de la concentración de NPsZnO aplicada (Tabla 4).

Las NPsZnO afectaron positivamente el contenido de Zn y se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) (Tabla 4). La mayor concentración de Zn se detectó en las muestras tratadas, que fluctuaron entre 0,76 (T1) y 5 % (T5) más contenido que T0.

El efecto de la aplicación de NPsZnO sobre los contenidos de TCI, Cla y Clb depende de la concentración, el tamaño y la fuente de la nanopartícula (Juárez-Maldonado et al., 2019; Rivero-Montejo et al., 2021). Resultados de investigaciones previas muestran una discrepancia respecto al efecto de las NPsZnO sobre el contenido de clorofilas en las plantas. Así, mientras que algunos investigadores encontraron que las NPsZnO estimulan la biosíntesis de clorofilas (Wang et al., 2016; Garza-Alonso et al., 2023), otros informan de que las NPsZnO inhiben su biosíntesis (Husayn y Guda, 2023).

Tabla 4. Medias y desviación estándar del contenido de clorofila total, a, b, carotenoides y Zn en lechugas tratadas con NPsZnO y producidas bajo en lechugas cultivadas bajo un sistema hidropónico
 Table 4. Means and standard deviation on the content of total chlorophyll, a, b, carotenoids, and Zn in lettuce treated with ZnONPs and produced under lettuce grown under a hydroponic system.

Tratamientos NPsZnO (mg L ⁻¹)	CIT (mg g ⁻¹ PF)	Cla (mg g ⁻¹ PF)	Clb (mg g ⁻¹ PF)	Cla/Clb	CarT (μg g ⁻¹ PF)	CIT/CarT	Contenido de Zn (μg g ⁻¹ PF)
T0	3,06 ± 0,04f ¹	1,09 ± 0,05e	1,97 ± 0,05e	0,55	1,52 ± 0,04f	2,01	9,05 ± 0,02f
T1	3,41 ± 0,01e	1,26 ± 0,04d	2,15 ± 0,02d	0,59	1,64 ± 0,01e	2,07	9,12 ± 0,02e
T2	3,58 ± 0,01d	1,36 ± 0,01c	2,22 ± 0,02c	0,61	1,77 ± 0,01d	2,02	9,19 ± 0,04d
T3	3,68 ± 0,02c	1,42 ± 0,01bc	2,26 ± 0,02c	0,63	1,84 ± 0,02c	2,00	9,27 ± 0,01c
T4	3,78 ± 0,01b	1,45 ± 0,01b	2,33 ± 0,02b	0,62	1,88 ± 0,01b	2,01	9,35 ± 0,04b
T5	4,02 ± 0,01a	1,60 ± 0,04a	2,42 ± 0,01a	0,66	1,96 ± 0,01a	2,05	9,55 ± 0,11a

¹Medias con diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes (DMS, $p \leq 0,05$). CIT= Clorofila total. Cla = Contenido de clorofila a. Clb = Contenido de clorofila b. CarT = Carotenoides total.

Los hallazgos del estudio actual mostraron que las NPsZnO afectaron significativamente los contenidos de CIT y CarT de las hojas de lechuga "romana". En el mismo sentido, Sohail et al. (2022) informaron un aparente impacto de las NPsZnO en el contenido de clorofila tanto en "Faisal" como en "Shiralee" *B. napus* en dosis bajas (5, 10 y 15 mg L⁻¹), donde el Zn podría ser un cofactor en la formación de cloroplastos (Nouet et al., 2011).

Aunque no es común que el contenido de Clb sea mayor que el de Cla, se ha informado que en la lechuga podría ocurrir debido a la sombra de las hojas mismas y de la estructura con malla antiáfidos en donde se realizó el experimento (Sapkota et al., 2019; Fortis-Hernández et al., 2022). Por otro lado, los tratamientos con NPsZnO a bajas concentraciones aumentaron el contenido de carotenoides de la misma manera como lo demostraron Sohail et al. (2022) en variedades de *B. napus*. Este aumento podría deberse a un efecto tóxico de provocación que activa el sistema antioxidante, mediante la elevación de la expresión de genes relacionados con la biosíntesis de carotenoides (Wang et al., 2016); por lo tanto, el aumento en la relación CIT/CarT observado es insignificante. En nuestros estudios, el contenido de Zn en hojas de T5, la concentración máxima de NPsZnO, fue solo un 5 % mayor que el control (T0) pero menor que lo informado por Salachna et al. (2021) en pimiento rojo (*Perilla frutescens*) tratado con 50 mg L⁻¹ NPsZnO, probablemente causado por una baja concentración del tratamiento y metabolizado por la planta. Estudios recientes demuestran la capacidad de las NPsZnO para modificar el metabolismo primario y secundario (Mumivand et al., 2021). Existe mucha evidencia de la capacidad de las NPsZnO para desencadenar la producción de compuestos bioactivos, tomando el papel de elicitador en las células del parénquima de las hojas (Pathak et al., 2023).

Contenido de fenoles totales, flavonoides, vitamina C y capacidad antioxidante

El efecto de las aplicaciones de NPsZnO sobre el contenido foliar de diferentes fitoquímicos se muestra en la Figura 1. El análisis de varianza muestra diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. T0 tuvo los valores más bajos en cada una de las variables fitoquímicas,

obteniendo valores de 159,10 mg GA 100 g⁻¹ PF; 106,9 mg QE 100 g⁻¹ PF; 9,1 mg vitamina C 100 g⁻¹ PF y 94 miliequivalentes de Trolox 100 g⁻¹ PF, respectivamente. Por el contrario, observamos un aumento lineal en el contenido de fitoquímicos con concentraciones crecientes de NPsZnO como se demostró en T4 y T5 (204 mg GA 100 g⁻¹ PF, 151 mg QE 100 g⁻¹ PF).

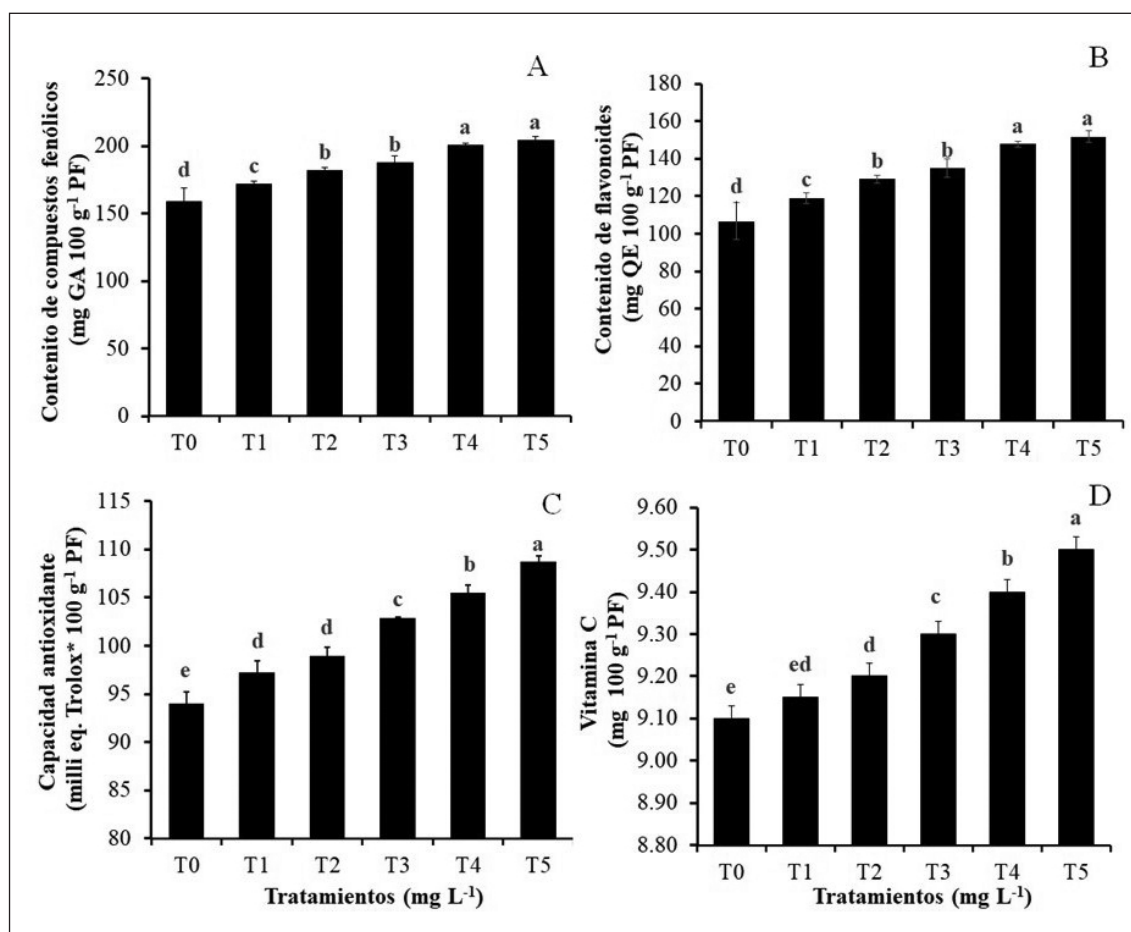


Figura 1. Medias y desviación estándar en el contenido de compuestos fenólicos totales (A), flavonoides (B), capacidad antioxidante (C) y contenido de vitamina C (D) en lechugas tratadas con NPsZnO y cultivadas bajo un sistema hidropónico.

Figure 1. Means and standard deviation on the content of total phenolic compounds (A), flavonoids (B), antioxidant capacity (C), and vitamin C content (D) in lettuces treated with ZnONPs and grown under a hydroponic system.

En el estudio actual, las NPsZnO aumentaron la cantidad total de compuestos fenólicos, flavonoides y vitamina C. Este resultado sugiere que las nanopartículas desencadenaron genes de defensa y la producción de especies reactivas de oxígeno que estimulan las respuestas antioxidantes y el metabolismo secundario (Javed *et al.*, 2018; Ahmad *et al.*, 2020; Rivera-Gutiérrez *et al.*, 2021).

El Zn acumulado en hojas de lechuga tratadas pudo inducir una mayor capacidad antioxidante debido al aumento de compuestos fitoquímicos analizados y a una posible activación del mecanismo de defensa enzimático (CAT, catalasa; SOD, superóxido dismutasa; GSH-Px, glutatión peroxidasa) (Sida-Arreola *et al.*, 2017).

Conclusiones

La aplicación de Zn en forma de NPsZnO vía foliar produjo diferencias significativas en el tamaño y acumulación de biomasa de las lechugas tratadas; además independientemente de la concentración aplicada se produjo un incremento en la concentración de los compuestos fitoquímicos, vitamina C y capacidad de antioxidante, así como la acumulación de Zn en el tejido foliar interno de las lechugas siendo más evidente en los tratamientos con mayor concentración de NPsZnO, provocando el efecto de biofortificación y mejora de la calidad nutricional.

Referencias bibliográficas

Abdel-Aziz H.M.M., Hasaneen M.N.A., Omer A.M. (2016). Nano chitosan-NPK fertilizer enhances the growth and productivity of wheat plants grown in sandy soil. *Spanish Journal of Agricultural Research* 14(1): e0902. <https://doi.org/10.5424/sjar/2016141-8205>

Ahmad M.A., Javed R., Adeel M., Rizwan M., Ao Q., Yang Y. (2020). Engineered ZnO and CuO nanoparticles ameliorate morphological and biochemical response in tissue culture regenerants of candyleaf (*Stevia rebaudiana*). *Molecules* 25(6): 1356. <https://doi.org/10.3390/molecules25061356>

Ahmed R., Yusoff Abd Samad M., Uddin M.K., Quddus M.A., Hossain M.A.M. (2021). Recent trends in the foliar spraying of zinc nutrient and zinc oxide nanoparticles in tomato production. *Agronomy* 11(10): 2074. <https://doi.org/10.3390/agronomy11102074>

Alloway B.J. (2008). Zinc in soils and crop nutrition, 2nd Ed. International Zinc Association; Paris: International Fertilizer Industry Association. Brussels, Belgium and Paris, France. 135 pp.

Bindraban P.S., Dimkpa C., Nagarajan L., Roy A., Rabbinge R. (2015). Revisiting fertilizers and fertilization strategies for improved nutrient uptake by plants. *Biology and Fertility of Soils* 51(8): 897-911. <https://doi.org/10.1007/s00374-015-1039-7>

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology* 28(1): 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Bouis H.E. (2007). The potential of genetically modified food crops to improve human nutrition in developing countries. *Journal of Development Studies* 43(1): 79-96. <https://doi.org/10.1080/00220380601055585>

Bouis H.E., Saltzman A. (2017). Improving nutrition through biofortification: A review of evidence from HarvestPlus, 2003 through 2016. *Global Food Security* 12: 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2017.01.009>

Broadley M.R., White P.J., Hammond J.P., Zelko I., Lux A. (2007). Zinc in plants. *New phytologist* 173(4): 677-702. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x>

Brown P.H., Cakmak I., Zhang Q. (1993). Form and function of zinc plants. En: *Zinc in Soils and Plants: Proceedings of the International Symposium on 'Zinc in Soils and Plants' held at The*

- University of Western Australia, 27-28 September, Netherlands, pp. 93-106. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0878-2_7.
- Cometti N.N., Bremenkamp D.M., Galon K., Hell L.R., Zanotelli M.F. (2013). Cooling and concentration of nutrient solution in hydroponic lettuce crop. *Horticultura Brasileira* 31: 287-292. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362013000200018>
- de Carvalho L.M.J., Gomes P.B., de Oliveira Godoy R. L., Pacheco S., do Monte P.H.F., de Carvalho J.L.V., Nutti M.R., Neves A.C.L., Vieira A.C.R.A., Ramos S.R.R. (2012). Total carotenoid content, α -carotene and β -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. *Food Research International* 47(2): 337-340. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.040>
- Fernández V., Eichert T. (2009). Uptake of hydrophilic solutes through plant leaves: current state of knowledge and perspectives of foliar fertilization. *Critical Reviews in Plant Sciences* 28: 36-68. <https://doi.org/10.1080/07352680902743069>
- Fernández V., Sotiropoulos T., Brown P. (2015). Fertilización foliar. Principios científicos y prácticas de campo. Asociación Internacional de la Industria de Fertilizantes (IFA). Paris, Francia, 159 pp.
- Fortis-Hernández M., García-Delgado J.D., Preciado-Rangel P., Trejo-Valencia R., Sánchez-Estrada A., Fortiz-Hernández J. (2022). Commercial and phytochemical quality in biofortified 'Orejona' lettuce with zinc oxide nanoparticles. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 50(4): 12969-12969. <https://doi.org/10.15835/nbha50312969>
- Gač P., Czerwińska K., Macek P., Jaremków A., Mazur G., Pawlas K., Poręba R. (2021). The importance of selenium and zinc deficiency in cardiovascular disorders. *Environmental toxicology and pharmacology* 82: 103553. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103553>
- Garza-Alonso C.A., Juárez-Maldonado A., González-Morales S., Cabrera-De la Fuente M., Cadenas-Pliego G., Morales-Díaz A.B., Trejo-Téllez L.I., Tortella G., Benavides-Mendoza, A. (2023). ZnO nanoparticles as potential fertilizer and biostimulant for lettuce. *Heliyon* 9(1): e12787. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12787>
- Gondal A.H., Zafar A., Zainab D., Toor M.D., Sohail S., Ameen S., Ijaz A.B., Imran B., Hussain I., Haider S., Ahmad I.A., Rehman B., Younas N. (2021). A detailed review study of zinc involvement in animal, plant and human nutrition. *Indian Journal of Pure & Applied Biosciences* 9(2): 262-271. <http://dx.doi.org/10.18782/2582-2845.8652>
- Haider M.U., Hussain M., Farooq M., Nawaz A. (2020). Zinc nutrition for improving the productivity and grain biofortification of mungbean. *Journal of Soil Science Plant Nutrition* 20(3): 1321-1335. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00215-z>
- Husayn D.M., Guda M.A. (2023). Effect of zinc oxide nanoparticles on biomarkers of chlorophyll and carotene in some wild plants. 2nd International Conference on Engineering and Advanced Technology, 28-29 marzo 2022 Istanbul, Turkey. AIP Conference Proceedings 2787(1): 090035. <https://doi.org/10.1063/5.0148197>
- Javed R., Yucesan B., Zia M., Gurel E. (2018). Elicitation of secondary metabolites in callus cultures of *Stevia rebaudiana* Bertoni grown under ZnO and CuO nanoparticles stress. *Sugar Technology* 20(2): 194-201. <https://doi.org/10.1007/s12355-017-0539-1>
- Juárez-Maldonado A., Ortega-Ortíz H., Morales-Díaz A.B., González-Morales S., Morelos-Moreno A., Cabrera-De la Fuente M., Sandoval-Rangel A., Cadenas-Pliego G., Benavides-Mendoza A. (2019). Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. *International Journal of Molecular Sciences* 20(1): 162. <https://doi.org/10.3390/ijms20010162>
- Kardos J., Jemnitz K., Jablonkai I., Bóta A., Varga Z., Visy J., Héja L. (2015). The Janus facet of nanomaterials. *BioMed Research International* 2015(1): 317184. <https://doi.org/10.1155/2015/317184>
- Khalid M.F., Ali A., Waheed H., Safdar M.E., Javadi M.M., Hayyat M.S., Raza A., Farooq N., Ali H.H. (2019). Exploring the role of zinc fertilization methods for agronomic bio-fortification and its impact on phenology, growth and yield cha-

- racteristics of maize. *Semina: Ciências Agrárias* 40(5): 2209-2222. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n5Supl1p2209>
- Lal Regar K., Kumar V., Chandra Chandola J., Shankar Patel S., Kumar Singh A., Kundu M.S., Kumar Singh S. (2022). Zinc fertilization: effects on nutrients availability and productivity of rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Plant & Soil Science* 41-47. <https://doi.org/10.9734/ijpss%2F2022%2Fv34i1230958>
- Lamaison J.L.C., Carnet A. (1990). Contents in main flavonoid compounds of *Crataegus Monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poiret) D.C. flowers at different development stages. *Pharmaceutica Acta Helvetica* 65: 315-320.
- Levenson C.W., Morris D. (2011). Zinc and neurogenesis: making new neurons from development to adulthood. *Advances in Nutrition* 2(2): 96-100. <https://doi.org/10.3945/an.110.000174>
- Liu R., Zhang H., Lal R. (2016). Effects of stabilized nanoparticles of copper, zinc, manganese, and iron oxides in low concentrations on lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination: Nanotoxigants or nanonutrients?. *Water, Air, and Soil Pollution* 227: 42. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2738-2>
- Liu H., Zhang Y.H., Yin H., Wang W.X., Zhao X.M., Du Y.G. (2013). Alginate oligosaccharides enhanced *Triticum aestivum* L. tolerance to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 62: 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.10.012>
- Mckean S.J. (1993). *Manual de análisis de suelos y tejido vegetal: una guía teórica y práctica de metodologías*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Colombia. 103 pp.
- Mahajan P., Dhoke S.K., Khama A.S. (2011). Effect of nano-ZnO particle suspension on growth of mung (*Vigna radiata*) and gram (*Cicer arietinum*) seedlings using plant agar method. *Journal of Nanotechnology* 2011(1): 696535. <https://doi.org/10.1155/2011/696535>
- Mahapatra D.M., Satapathy K.C., Panda B. (2022). Biofertilizers and nanofertilizers for sustainable agriculture: Phycoprosects and challenges. *Science of The Total Environment* 803: 149990. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149990>
- Mathpal B., Srivastava P.C., Shankhdhar D., Shankhdhar S.C. (2015). Zinc enrichment in wheat genotypes under various methods of zinc application. *Plant Soil & Environment* 61(4): 171-175. <https://doi.org/10.17221/41/2015-PSE>
- Maxfield L., Shukla S., Crane J.S. (2022). Zinc deficiency. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493231/> (Consultado: 01/09/2023)
- Moshfeghi N., Heidari M., Asghari H.R., Abadi M.B.F., Abbott L.K., Chen Y. (2019). Effect of zinc foliar application and mycorrhizal inoculation on morpho-physiological traits and yield parameters of two barley cultivars. *Italian Journal of Agronomy* 14(2): 67-77. <https://doi.org/10.4081/ija.2019.1354>
- Mumivand H., Khanizadeh P., Morshedloo M.R., Sierka E., Zuk-Golaszewska K., Horaczek T., Kalaji H.M. (2021). Improvement of growth, yield, seed production and phytochemical properties of *Satureja khuzistanica* Jamzad by foliar application of boron and zinc. *Plants* 10: 2469. <https://doi.org/10.3390/plants10112469>
- Mustafa A., Imran M., Ashraf M., Mahmood K. (2018). Perspectives of using l-tryptophan for improving productivity of agricultural crops: A review. *Pedosphere* 28(1): 16-34. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(18\)60002-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(18)60002-5)
- Niu J., Liu C., Huang M., Liu K., Yan D. (2021). Effects of foliar fertilization: a review of current status and future perspectives. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 21: 104-118. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00346-3>
- Nouet C., Motte P., Hanikenne M. (2011). Chloroplastic and mitochondrial metal homeostasis. *Trends in Plant Science* 16(7): 395-404. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.005>
- Otálora G., Piñero M.C., López-Marín J., Varó P., del Amor F.M. (2018). Effects of foliar nitrogen fertilization on the phenolic, mineral, and amino acid composition of escarole (*Cichorium endivia* L. var. latifolium). *Scientia Horticulturae* 239: 87-92. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.031>
- Padayatty S.J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J.H., Shenglin C., Christopher C., Anand D., Sudhir K.D., Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease

- prevention. *Journal of the American College of Nutrition* 22(1): 18-35. <https://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272>
- Pathak A., Haq S., Meena N., Dwivedi P., Kothari S.L., Kachhwaha S. (2023). Multifaceted role of nanomaterials in modulating in vitro seed germination, plant morphogenesis, metabolism and genetic engineering. *Plants* 12(17): 3126. <https://doi.org/10.3390/plants12173126>
- Pereira D.D.F., Silva T.P.D., Freire W., Souza Ê.G., Cruz E.A.D., Feitosa R.M. (2023). Agronomic characteristics and quality of lettuce cultivars in different crop seasons in western Alagoas, Brazil. *Revista Caatinga* 36: 106-114. <https://doi.org/10.1590/1983-21252023v36n112rc>
- Poorter H., Niklas K.J., Reich P.B., Oleksyn J., Poot P., Mommer L. (2012). Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist* 193(1): 30-50. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03952.x>
- Ramírez-Barrón S.N., Sánchez-Valdés S., Puente-Urbina B.A., Martínez-Montemayor S., Esparza-González S.C., Betancourt-Galindo R. (2019). Preparación de un adhesivo sensible a la presión (PSA) con la incorporación de nanopartículas de ZnO. Estudio de sus propiedades físico-químicas y antimicrobianas. *Revista Mexicana de Ingeniería biomédica* 40(1): 1-10. <https://doi.org/10.17488/RMIB.40.1.5>
- Reddy P.V.L., Hernandez-Viezcas J.A., Peralta-Videa, J.R., Gardea-Torresdey J.L. (2016). Lessons learned: are engineered nanomaterials toxic to terrestrial plants?. *Science of the Total Environment* 568: 470-479. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.042>
- Rivera-Gutiérrez R.G., Preciado-Rangel P., Fortis-Hernández M., Betancourt-Galindo R., Yescas-Coronado P., Orozco-Vidal J.A. (2021). Zinc oxide nanoparticles and their effect on melon yield and quality. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 12(5): 791-803. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2987>
- Rivero-Montejo S.D.J., Vargas-Hernandez M., Torres-Pacheco I. (2021). Nanoparticles as novel elicitors to improve bioactive compounds in plants. *Agriculture* 11(2): 134. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020134>
- Salachna P., Mizielińska M., Płoszaj-Witkowska B., Jaszczak A. (2021). Zinc oxide nanoparticles enhanced biomass and zinc content and induced changes in biological properties of red *Perilla frutescens*. *Materials* 14(20): 6182. <https://doi.org/10.3390/ma14206182>
- Sapkota S., Sapkota S., Liu Z. (2019). Effects of nutrient composition and lettuce cultivar on crop production in hydroponic culture. *Horticulturae* 5(4): 72. <https://doi.org/10.3390/horticulturae5040072>
- SAS (2009). JMP User Guide. Release 8. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, US. 513 pp.
- Sharifan H., Ma X., Moore J.M., Habib M.R., Evans C. (2019). Zinc oxide nanoparticles alleviated the bioavailability of cadmium and lead and changed the uptake of iron in hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. Longifolia). *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 7(19): 16401-16409. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b03531>
- Shukla P.K., Misra P., Kole C. (2016). Uptake, translocation, accumulation, transformation, and generational transmission of nanoparticles in plants. En: *Plant Nanotechnology: Principles and Practices* (Eds. Chittaranjan K., Sakthi-Kumar D., Khodakovskaya M.V.), pp. 183-218. Springer. Swizerland. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42154-4_8
- Sida-Arreola J.P., Sánchez E., Preciado-Rangel P., Márquez-Quiroz C. (2017). Does zinc biofortification affects the antioxidant activity in common bean?. *Cogent Food & Agriculture* 3(1): 1283725. <https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1283725>
- Singleton V.L., Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Sohail L., Sawati L., Ferrari E., Stierhof Y.D., Kemmerling B., Mashwani Z.U.R. (2022). Molecular effects of biogenic zinc nanoparticles on the growth and development of *Brassica napus* L. revealed by proteomics and transcriptomics. *Frontiers in Plant Science* 13: 798751. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.798751>

- Steiner A.A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and soil* 15: 134-154. <https://doi.org/10.1007/BF01347224>
- Subbaiah L.V, Prasad T.N.V.K.V, Krishna T.G., Sudhakar P., Reddy B.R., Pradeep T. (2016). Novel effects of nanoparticulate delivery of zinc on growth, productivity, and zinc biofortification in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64(19): 3778-3788. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00838>.
- Subramanian K.S., Manikandan A., Thirunavukarasu M., Rahale C.S. (2015). Nano-fertilizers for balanced crop nutrition. En: *Nanotechnologies in Food and Agriculture* (Eds. Rai M., Ribeiro C., Mattoso L., Duran N.), pp. 69-80. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14024-7_3.
- Szerement J., Szatanik-Kloc A., Mokrzycki J., Mierzwa-Hersztek M. (2022). Agronomic biofortification with Se, Zn, and Fe: An effective strategy to enhance crop nutritional quality and stress defense – A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 22(1): 1129-1159. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00719-2>
- Tsonev T., Cebola-Lidon F.J. (2012). Zinc in plants-an overview. *Emirates Journal of Food & Agriculture* 24(4): 322-333.
- Wang X., Yang X., Chen S., Li Q., Wang W., Hou C., Gao X., Wang L., Wang S. (2016). Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science* 7: 559. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01243>
- Wasaya A., Shabir M.S., Hussain M., Muhammad Ansar M., Aziz A., Hassan W., Ahmad I. (2017). Foliar application of Zinc and Boron improved the productivity and net returns of maize grown under rainfed conditions of Pothwar plateau. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 17(1): 33-45. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162017005000003>
- White P.J., Broadley M.R. (2011). Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. *Frontiers in plant science* 2: 80. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00080>
- Younas A., Yousaf Z., Rashid M., Riaz N., Aftab A., Shahid M. J., Yasin H., Shahzadi Z., Maqbool Z., Feroz A., Sarwar-Khan S., Zaheer T. (2023). Contribution of biotechnological approaches to micronutrient improvements in legumes. En: *Legumes Biofortification* (Ed. Nadeem M.A., Baloch F.S., Fiaz S., Aasim M., Habyarimana E., Sönmez O., Zencirci N.), pp. 131-176. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-33957-8_6
- Zia-Butt B., Nasser I. (2020). Nanofertilizers. En: *Nanoagronomy*. (Ed. Javad S.), pp. 125-152. Springer Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41275-3_8

(Aceptado para publicación el 2 de agosto de 2024)