

Nanopartículas de óxido de zinc para incrementar rendimiento, compuestos bioactivos y actividad enzimática en lechuga

Zinc oxide nanoparticles to increase yield, bioactive compounds and enzyme activity in lettuce

Manuel Fortis-Hernández¹ , Alexis Gabriel Pivaral-Chávez¹ , Alma Patricia Galindo-Guzmán¹ , Pablo Preciado-Rangel¹ , Francisco Javier Ruiz-Ortega¹ , Radamés Trejo-Valencia^{2*} 

¹Tecnológico Nacional de México – Campus Instituto Tecnológico de Torreón. Antigua Carretera Torreón-San Pedro, km 7.5, CP. 27170. Torreón, Coahuila, México.

²Tecnológico Nacional de México – Campus Mérida. Av. Tecnológico, S/N, km 4.5, CP. 97118. Mérida, Yucatán, México.

*Autor de correspondencia: radames.tv@merida.tecnm.mx

Artículo científico

Recibido: 09 de noviembre 2023

Aceptado: 06 de enero 2024

RESUMEN. El uso de nanopartículas (NPs) en la agricultura presenta diversas aplicaciones, entre las cuales se destaca el potencial para aumentar las tasas de producción y mejorar los valores nutricionales de las plantas. Este estudio se centra en la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de zinc (NPs-ZnO) en plantas de *Lactuca sativa* L. var. *longifolia* producidas en un sistema hidropónico con la técnica de película de nutrientes (NFT). La investigación se llevó a cabo durante el ciclo otoño-invierno 2022-2023. El objetivo principal de la investigación fue evaluar el impacto de las NPs-ZnO sobre el rendimiento, compuestos bioactivos y actividad enzimática en lechuga. Los tratamientos evaluados fueron: tratamiento control (0) y cuatro dosis equidistantes de 10, 20, 30 y 40 mg L⁻¹ de nanopartículas; el diseño utilizado fue completamente al azar. Los resultados revelan que la concentración de zinc (Zn²⁺) en las plantas aumenta significativamente con la aplicación de NPs-ZnO, lo que conlleva a mayor producción de metabolitos beneficiosos para el cultivo. Es destacable que la concentración de 40 mg L⁻¹ de NPs-ZnO haya mostrado mejoras significativas con respecto al tratamiento control en todas las variables evaluadas; peso fresco, materia seca, contenido de zinc, clorofila total, carotenoides totales, fenoles totales, capacidad antioxidante, flavonoides totales, vitamina C, catalasa y peroxidasa, sugiriendo que esta dosis específica podría ser óptima para obtener máximos beneficios. Por lo tanto, la aplicación foliar de NPs ZnO es una manera práctica de enriquecer las plantas de lechuga y mitigar las deficiencias de este micronutriente en la población.

Palabras clave: *Lactuca sativa* L., hidroponía, catalasa, peroxidasa, estrés oxidativo.

ABSTRACT. The use of nanoparticles (NPs) in agriculture offers diverse applications, with a noteworthy emphasis on enhancing production rates and elevating the nutritional values of plants. This study specifically explores the foliar application of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) in *Lactuca sativa* L. var. *longifolia* cultivated through a hydroponic system utilizing the nutrient film technique (NFT). The research was carried out during the autumn-winter cycle of 2022-2023. The main objective of this research was to assess the impact of NPs ZnO on yield, bioactive compounds, and enzymatic activity in lettuce. The treatments under evaluation included a control treatment (0) and four equidistant doses of 10, 20, 30, and 40 mg L⁻¹ of nanoparticles. The experimental design employed was completely randomized. The results obtained indicate a significant increase in the concentration of zinc (Zn²⁺) in plants with the application of ZnO NPs, resulting in a heightened production of beneficial metabolites for the crop. Remarkably, the concentration of 40 mg L⁻¹ of ZnO NPs demonstrated significant improvements in comparison to the control treatment across all evaluated variables: fresh weight, dry matter, zinc content, total chlorophyll, total carotenoids, total phenolics, antioxidant capacity, total flavonoids, vitamin C, catalase and peroxidase. These findings suggest that this specific dose could be optimal for achieving maximum benefits. In conclusion, foliar application of ZnO NPs emerges as a practical approach to enrich lettuce plants and alleviate micronutrient deficiencies in the population.

Keywords: *Lactuca sativa* L., hydroponics, catalase, peroxidase, oxidative stress.

Como citar: Fortis-Hernández M, Pivaral-Chávez AG, Galindo-Guzmán AP, Preciado-Rangel P, Ruiz-Ortega FJ, Trejo-Valencia R (2024) Nanopartículas de óxido de zinc para incrementar rendimiento, compuestos bioactivos y actividad enzimática en lechuga. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 11(1): e3939. DOI: 10.19136/era.a11n1.3939.

INTRODUCCIÓN

En diversas regiones del mundo los suelos agrícolas son deficientes en zinc (Zn^{2+}) (Garza-Alonso *et al.* 2023) y la corrección de esta deficiencia mediante la fertilización química convencional puede resultar costosa e ineficaz, dado que los fertilizantes aplicados suelen agotarse rápidamente debido a diversas reacciones químicas como la fotólisis, hidrólisis y descomposición (El-Azeim *et al.* 2020). Además, la amenaza de la contaminación química y los efectos residuales de los fertilizantes requieren enfoques alternativos y ecológicos para abordar la deficiencia de Zn^{2+} en el suelo (Khan *et al.* 2022).

Este micronutriente, aunque necesario en pequeñas cantidades, es indispensable para el ciclo de vida de las plantas (Amezcuza y Lara 2017) y su ausencia en la dieta humana puede tener un impacto adverso en el sistema inmunológico, aumentando la vulnerabilidad a enfermedades, por lo que resulta indispensable suplementar alimentos ricos en Zn^{2+} para atender este déficit en la población (Gombart *et al.* 2020). El Zn^{2+} desempeña un papel clave como promotor del desarrollo vegetal al actuar como precursor en la producción de auxinas, las cuales influyen en la elongación y división celular (Castillo-González *et al.* 2018).

La nutrición mineral con nanopartículas (NPs) sugiere una mayor eficiencia en comparación con las fuentes convencionales de fertilizantes (Lira-Saldivar *et al.* 2018). Las NPs ofrecen una liberación controlada de nutrientes a lo largo del tiempo debido a su mayor área superficial, lo que proporciona más sitios de contacto para la absorción de nutrientes (El-Azeim *et al.* 2020). Estas ventajas, respaldadas por estudios previos, sugieren que las NPs son una opción prometedora para incrementar la producción de alimentos al mejorar los procesos fisiológicos, la calidad de las cosechas y el rendimiento en diversos cultivos (Elsheery *et al.* 2020, Faizan *et al.* 2020).

La aplicación foliar de nanopartículas de óxido de zinc (NPs-ZnO) ha demostrado incrementar el rendimiento, mejorado la calidad comercial y nutracéutica (Rivera-Gutiérrez *et al.* 2021), aumentado biomasa aérea, compuestos bioactivos e inducen la acumulación de minerales esenciales (Galindo-Guzmán *et al.* 2022, Garza-Alonso *et al.* 2023) y pueden utilizarse potencialmente para mejorar la nutrición humana (Sun *et al.* 2020). En *Portulaca oleracea* L., incrementó algunos fitoquímicos como flavonoides, fenoles y capacidad antioxidante (Iziy *et al.* 2019).

Sin embargo, estos nanomateriales (NM) también pueden tener efectos adversos, como toxicidad, debido a factores como el tamaño o forma del NM, método de aplicación, dosis, tiempo de exposición, condiciones ambientales y la especie vegetal (Hossain *et al.* 2020). Las NPs-ZnO pueden causar estrés oxidativo y desencadenar los mecanismos de defensa antioxidantes para la planta, las enzimas como la catalasa y peroxidasa son capaces de mitigar el exceso de especies reactivas de oxígeno (Faizan *et al.* 2020). El estrés oxidativo es un fenómeno que ocurre en las plantas cuando se produce un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y la capacidad de la célula para neutralizarlas (Sachdev *et al.* 2021). Una toxicidad provocada por las NPs incrementa el ROS y puede provocar daños en el ADN y la muerte celular (Shi *et al.* 2022).

Por otro lado, la lechuga es una hortaliza que presenta una alta demanda en el mundo por su consumo en fresco (Medina-Lozano *et al.* 2021) es una fuente abundante de sustancias fitoquímicas como flavonoides, ácidos hidroxinámicos, vitamina C, carotenoides, fibra dietética,

entre otros, que le otorgan un alto valor nutricional y beneficios para la salud humana (Yang *et al.* 2021). Por lo que esta investigación tiene como objetivo evaluar el efecto de las NPs-ZnO sintetizadas a través de un método químico y su efecto de la aplicación foliar en el rendimiento, compuestos bioactivos y actividad enzimática en plantas de lechuga producidas en un sistema hidropónico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

La investigación se llevó a cabo durante el ciclo otoño-invierno 2022-2023 durante los meses de noviembre a febrero, en un sistema hidropónico con la técnica de película de nutrientes conocida como NFT (Nutrient Film Technique) por sus siglas en inglés, ubicado en una malla sombra del Instituto Tecnológico de Torreón (ITT), en la ciudad de Torreón, Coahuila, México, localizado geográficamente a 25° 36' 36" latitud norte, 103° 22' 32" longitud oeste y altitud de 1150 msnm. El sistema NFT consistió en una estructura de tubos de PVC de 3 pulgadas de diámetro, con una separación de 20 cm entre orificios y con una pendiente del 10%, con recirculación de la solución nutritiva.

Manejo de cultivo

Se utilizaron semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) tipo orejona de la empresa Seeds of Change®, la cual se cosecha entre los 60 a 80 días, las semillas se germinaron en semilleros de foami agrícola Peatfoam® para sistemas hidropónicos. El trasplante se realizó a los diez días después de la siembra, cuando la plántula presentó de dos a tres hojas verdaderas, se colocó una planta por cada cavidad en los tubos de PVC del sistema NFT y la nutrición del cultivo se realizó utilizando la solución nutritiva Steiner (Steiner 1984). Para la preparación de la solución nutritiva se utilizaron fertilizantes comerciales de alta solubilidad disponibles en el mercado regional, fue ajustada a una conductividad eléctrica (CE) de 2.0 dS m⁻¹ y el pH a 5.5.

Nanopartículas de óxido de zinc

Se utilizaron NPs-ZnO de tamaño entre 67 y 71 nm, con una pureza del 99%, color blanco y estructura semiesférica y poligonal. Se sintetizaron a través de un método de precipitación química controlada siguiendo Galindo-Guzmán *et al.* (2022), utilizando acetato de zinc Zn(CH₃COO)₂ como precursor.

Aplicación de tratamientos

Los tratamientos consistieron en la aplicación foliar de las NPs-ZnO. Los tratamientos evaluados fueron: un tratamiento control (0) y cuatro dosis equidistantes de 10, 20, 30 y 40 mg L⁻¹ de las nanopartículas sintetizadas, cada solución se disolvió en agua desionizada y se aplicó inmediatamente después de su preparación. Fueron aplicadas con atomizadores cilíndricos y para una mejor adherencia se adicionó un surfactante no iónico-adherente INEX-A (Cosmocel®). Las aplicaciones foliares se realizaron durante el ciclo del cultivo, la primera aplicación se realizó a los 15 días después del trasplante, posteriormente cada aplicación se realizó cada 15 días, acumulando un total de cuatro aplicaciones. Se utilizaron aproximadamente 30 mL de solución para cada planta

individual, suficiente para cubrir toda la superficie. Las aplicaciones foliares se realizaron en horas de la mañana y sin presencia de viento.

Variables evaluadas

Rendimiento

La cosecha de las plantas de lechuga se realizó a los 60 días después del trasplante cuando las hojas habían alcanzado su madurez comercial. Enseguida, se midió el peso fresco (PF) de las plantas de lechuga en una báscula digital de la marca Balance®. Luego, para medir la materia seca, las plantas de lechuga se secaron a temperatura ambiente durante cinco días, posteriormente se llevaron a un horno estufa de la marca Memmert® modelo W02WVU por 24 h a temperatura de 75 °C, después se pesaron en una báscula.

Concentración de zinc en el tejido vegetal

El contenido total Zn^{2+} se determinó después de la digestión de la muestra con ácido nítrico al 65%. Las muestras de hojas secas se pesaron en tubos de digestión y se agregaron 10 mL de ácido nítrico. Los tubos se calentaron en un aparato de digestión por infrarrojos. Se añadió ácido nítrico para completar la digestión según fuera necesario. Se dejó secar la solución cuando el contenido de los tubos estuvo claro. El residuo se disolvió con suficiente solución de ácido nítrico y lantano para alcanzar una concentración final de 1% HNO_3 + 0,5% lantano 99.99% cuando se llevó al volumen del matraz aforado empleado. La solución obtenida se utilizó luego para determinar zinc mediante espectrometría de absorción atómica de llama (F-AAS) utilizando un Thermo Scientific iCE 3000. Se leyeron los blancos y los estándares de calibración con fines de aseguramiento de la calidad. Los resultados se expresaron como μg de elemento por g de peso seco ($\mu g g^{-1}$ PS).

Compuestos bioactivos

El contenido de clorofila y carotenoides se determinó según el método de Lichtenthaler y Wellburn (1983), suspendiendo 50 mg de hojas frescas maceradas en etanol al 95% registrando las lecturas de absorbancia a 665, 649 y 470 nm en un espectrofotómetro UV-visible Jenway 7305.

El contenido fenólico total se determinó por el método de Folin Ciocalteu (Singleton *et al.* 1999), se pesaron 0.2 g de muestra liofilizada y se agregaron 1 080 mL de agua en un tubo de ensayo, para luego agregar 120 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu agitando en vortex durante 10 s. Después de 10 min, se añadieron 0.9 mL de Na_2CO_3 al 7.5% y se agitó durante 10 s. Las muestras se colocaron a temperatura ambiente durante 30 min. Finalmente, se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Jenway 7305. El estándar se preparó con ácido gálico (AG) y los resultados se expresaron en mg AG g^{-1} PS.

La capacidad antioxidante se determinó con el método in vitro DPPH+ (Brand-Williams *et al.* 1995). Se mezclaron 2 g de muestra fresca en 10 mL de etanol al 80% en tubos de ensayo, los cuales se colocaron en un agitador orbital en la oscuridad durante 24 h a 20 rpm a temperatura ambiente. Después, el sobrenadante se extrajo para la prueba. Se elaboró una solución de DPPH+ con etanol, a concentración de 0.025 mg mL^{-1} . Se añadieron 50 μL de extracto etanólico con 1 950 μL de solución DPPH+, las mezclas se dejaron en reposo y en ausencia de luz durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se leyó la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis Jenway

7305. Se preparó una curva estándar con Trolox y los resultados se reportaron en Meq Trolox 100 g⁻¹ PF.

El contenido de flavonoides totales se determinó con la técnica descrita por Lamaison y Carnet (1990). Se tomaron 0.2 g de muestra liofilizada y se mezclaron con 1.25 mL de agua y 75 µL de NaNO₂ al 5%. Después de 5 min, se añadieron 150 µL de AlCl₃. Posteriormente se agregaron 500 µL de NaOH 1 M y 275 µL de agua y se agitó vigorosamente; la absorbancia de todas las muestras se midió en un espectrofotómetro UV-Vis Jenway 7305 a 510 nm. Se realizó una curva de calibración preparada con quercetina, los resultados se expresaron en mg QE g⁻¹ PS.

El contenido de vitamina C se determinó con el método de titulación reportado por Padayatt *et al.* (2001), para lo cual se colocaron 10 g de peso fresco de hojas en un mortero y se trituraron con 10 mL de ácido clorhídrico al 2%, luego la mezcla se filtró y se aforó a 100 mL con agua destilada. Posteriormente se tomaron 10 mL del diluido y se tituló con 2,6 diclorofenolindofenol (1X10⁻³ N) y se determinó el contenido de vitamina C.

Preparación de extracto enzimático

Se preparó el extracto crudo enzimáticamente activo, el material vegetal se lavó, desinfectó y secó, luego se cortó y homogeneizó en una licuadora 100 g de material vegetal con 50 mL de buffer fosfato de potasio al 0.1 M, durante 3 min en intervalos de 30 s. El homogeneizado se mantuvo a 4 °C por 24 h. Se filtró el preparado refrigerado con gasa, para eliminar los residuos vegetales. La parte líquida se centrifugó a 4000 rpm en una centrifuga refrigerada, durante 20 min a 4 °C. Este extracto sirvió para determinar la enzima catalasa, los resultados se reportaron como U CAT mg g⁻¹ de PF (Blackwell *et al.* 1990) y peroxidasa, expresados en U POD mg g⁻¹ de PF (Pascual *et al.* 1983).

Actividad enzimática

La actividad enzimática catalasa (CAT 1.11.1.6) se midió según el método de Aebi (1983). La actividad CAT se midió en un espectrofotómetro marca Jenway 7305 UV-Vis a temperatura ambiente monitoreando la disminución de la absorbancia a 240 nm resultante de la descomposición del H₂O₂. Se utilizó el coeficiente de extinción ($\epsilon_{240} = 43.6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y el contenido de proteína (Bradford 1976) para calcular la actividad enzimática. La actividad se expresó en U mg⁻¹ de proteína, donde una unidad (U) de actividad catalasa se definió como la cantidad de enzima que provocó un cambio de absorbancia de 0.001 por minuto, en las condiciones del ensayo.

La actividad enzimática peroxidasa (POD 1.11.1.7) se midió utilizando guaiacol como donante de hidrógeno. La actividad POD se midió espectrofotométricamente (Jenway 7305 UV-Vis) monitoreando el aumento de la absorbancia a 470 nm resultante de la oxidación del guaiacol por H₂O₂. Se utilizó el coeficiente de extinción ($\epsilon_{470} = 5.57 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) y el contenido de proteína (Bradford 1976) para calcular la actividad enzimática. La actividad se expresó en U mg⁻¹ de proteína, donde una unidad (U) de actividad peroxidasa se definió como un cambio de absorbancia de 0.001 por minuto, en las condiciones de ensayo (Onsa *et al.* 2004).

Análisis estadístico

El diseño utilizado fue completamente al azar, para el análisis estadístico se verificó la normalidad y la homogeneidad de varianza de los datos para cada una de las variables con la

prueba de Bartlett y Kolmogorov-Smirnov (Bartlett 1937, Steinskog *et al.* 2007). Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.1 (Statistical Analysis System Institute).

RESULTADOS

Rendimiento

Los resultados del análisis estadístico para peso fresco mostraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$). El rendimiento de las lechugas aumentó a medida que se incrementaron las dosis, en la concentración de 10 mg L^{-1} el aumento fue del 47%, para la dosis de 20 mg L^{-1} del 48% más de peso fresco y para los tratamientos de 30 y 40 mg L^{-1} incrementaron un 53 y 56%, con respecto al tratamiento control. Los rendimientos obtenidos en las plantas de lechuga fueron de 371 g en el tratamiento control, seguido de 708, 726, 804 y 858 g, respectivamente. Los resultados para materia seca mostraron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$), las aplicaciones con las concentraciones de 10 y 20 mg L^{-1} mostraron un aumento del 46% con respecto al control, las concentraciones de 30 y 40 mg L^{-1} de las NPs-ZnO incrementaron 47 y 49% respectivamente, influyendo de manera positiva en la materia seca con respecto al tratamiento control (Figura 1).

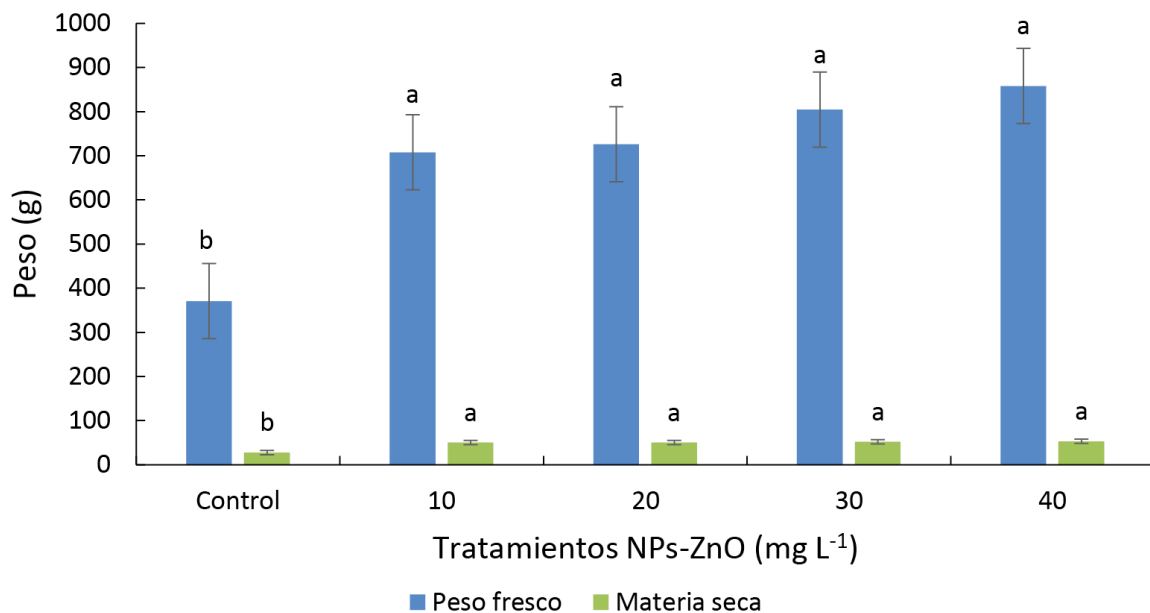


Figura 1. Rendimiento en peso fresco y materia seca en hojas de lechuga por efecto de la aplicación foliar de NPs-ZnO. Valores con letras distintas indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Concentración de zinc en el tejido vegetal

Los resultados para la concentración de zinc en las hojas de lechuga mostraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$), confirmando que las aplicaciones de nanopartículas puede ser una práctica que logre un aumento en la concentración de zinc. En este estudio todos los tratamientos con nanopartículas mostraron tener un mayor contenido de zinc; las concentraciones fueron de $70 \mu\text{g}$

g^{-1} de peso seco (PS) para el tratamiento control, $103.33 \mu\text{g g}^{-1}$ para los tratamientos de 20 y 30 mg L^{-1} mostrando un 32% más de zinc y los tratamientos de 10 y 40 mg L^{-1} la concentración fue de $116.666 \mu\text{g g}^{-1}$, es decir, superando un 39% al tratamiento control (Figura 2).

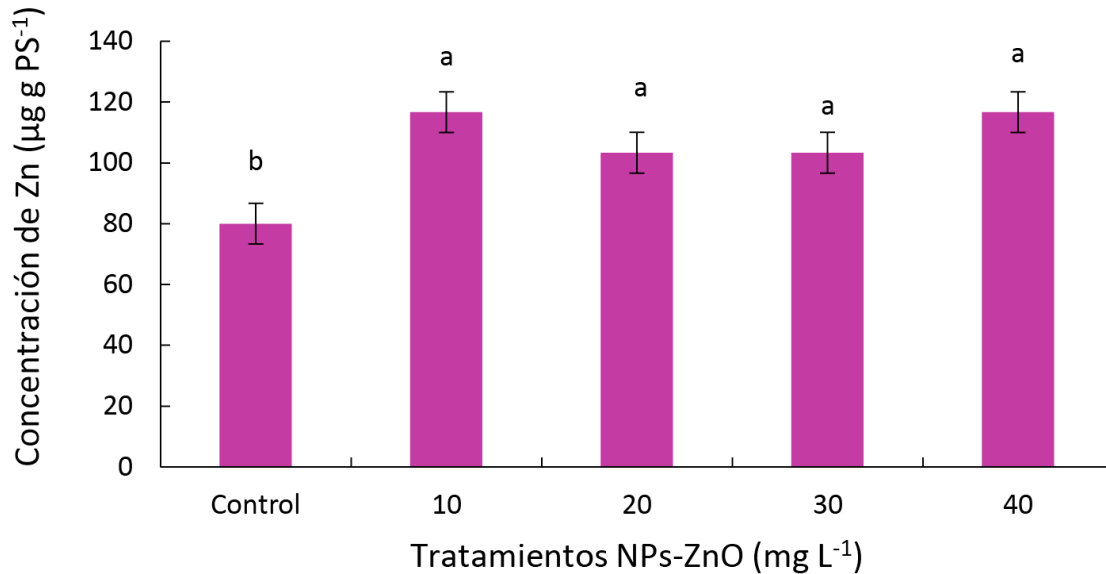


Figura 2. Concentración de zinc en hojas de lechuga por efecto de la aplicación foliar de NPs-ZnO. Valores con letras distintas indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Compuestos bioactivos

Los resultados por efecto de la aplicación foliar de NPs-ZnO en la variable clorofila total señalan diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$), sobresaliendo la dosis de 40 mg L^{-1} con un incremento del 38% más que el tratamiento control (Figura 3a). Los resultados para carotenoides totales demostraron que el mayor contenido se obtuvo con las dosis de 10 y 40 mg L^{-1} con una diferencia del 15% más que el control (Figura 3b). Los resultados para fenoles totales mostraron que la aplicación con los tratamientos de 30 y 40 mg L^{-1} de las NPs-ZnO presentaron la mayor concentración de esta variable, ambos tratamientos superaron al control con más de un 48% (Figura 3c). Para capacidad antioxidante, los tratamientos con NPs-ZnO fueron estadísticamente iguales entre sí, pero diferentes al control; la concentración de 10 mg L^{-1} fue superior en un 75%, el de 20 mg L^{-1} aumento 76%, el de 30 mg L^{-1} 77% y el de 40 mg L^{-1} incremento un 79% con respecto al control (Figura 3d). Los flavonoides mostraron diferencias significativas, la mayor concentración se obtuvo en el tratamiento de 30 mg L^{-1} , la cual incrementó los flavonoides hasta 38.6% (Figura 3e). El valor más alto en vitamina C fue el tratamiento con la concentración de 40 mg L^{-1} , con un aumento de más de 45%, respecto al tratamiento control (Figura 3f).

Actividad enzimática

Para la actividad enzimática de la catalasa el tratamiento de 40 mg L^{-1} incrementó la actividad de esta enzima hasta un 46%, respecto al tratamiento control. Las concentraciones de 10 y 20 mg L^{-1} mostraron un aumento del 37%, mientras que el tratamiento con 30 mg L^{-1} presentó un incremento del 43% (Figura 4a). Los resultados de la peroxidasa también presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$), los resultados mostraron que los tratamientos de 10, 20, 30 y 40 mg L^{-1}

fueron estadísticamente iguales, pero diferentes al tratamiento control. Las concentraciones de los tratamientos con 10 y 20 mg L⁻¹ presentaron un aumento de hasta un 77%, la concentración de 30 mg L⁻¹ incremento 73% y el de 40 mg L⁻¹ supero al testigo un 80% más de la enzima peroxidasa (Figura 4b).

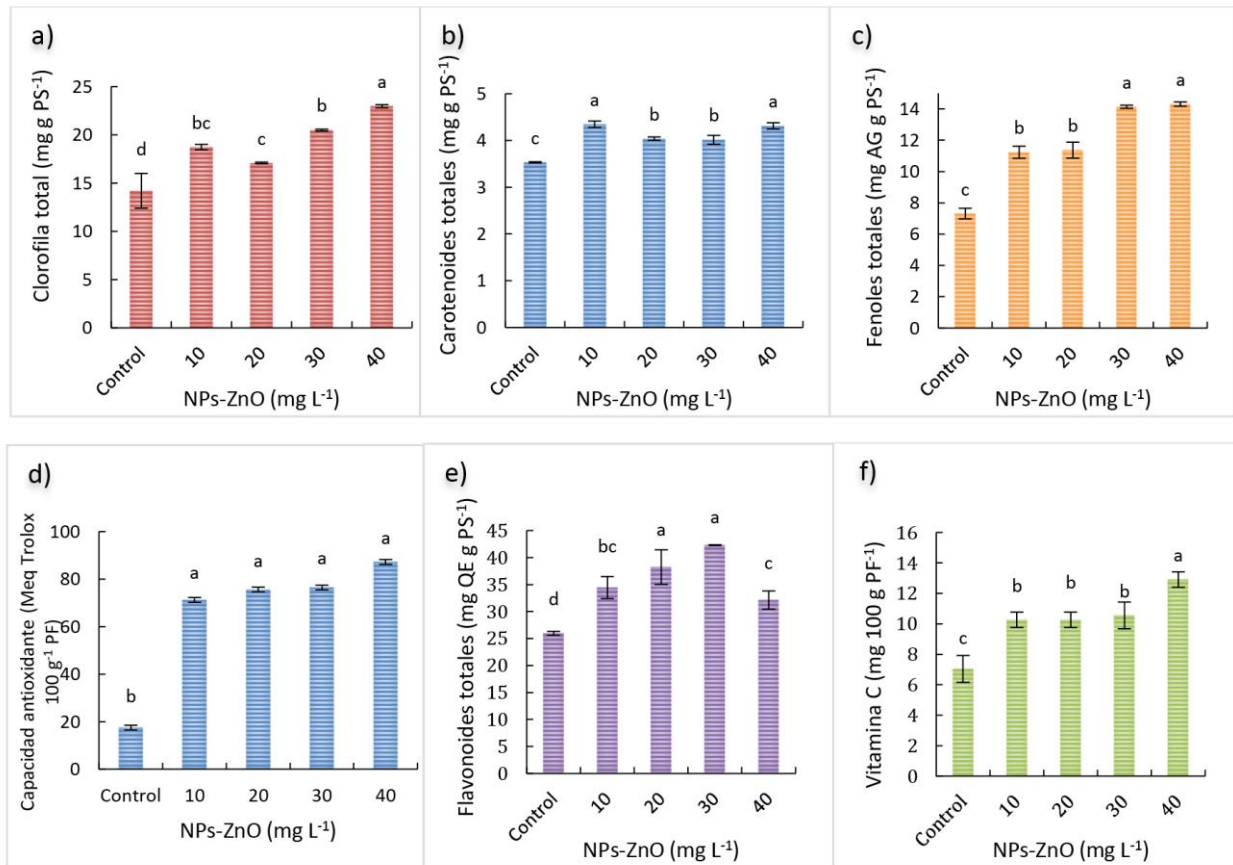


Figura 3. Compuestos bioactivos. Clorofila total (a), carotenoides totales (b), fenoles totales (c), capacidad antioxidante (d), flavonoides totales (e) y vitamina C (f) en hojas de lechuga por efecto de la aplicación foliar de NPs-ZnO. Valores con letras distintas indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Para la actividad enzimática de la catalasa el tratamiento de 40 mg L⁻¹ incrementó la actividad de esta enzima hasta un 46%, respecto al tratamiento control. Las concentraciones de 10 y 20 mg L⁻¹ mostraron un aumento del 37%, mientras que el tratamiento con 30 mg L⁻¹ presentó un incremento del 43% (Figura 4a). Los resultados de la peroxidasa también presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$), los resultados mostraron que los tratamientos de 10, 20, 30 y 40 mg L⁻¹ fueron estadísticamente iguales, pero diferentes al tratamiento control. Las concentraciones de los tratamientos con 10 y 20 mg L⁻¹ presentaron un aumento de hasta un 77%, la concentración de 30 mg L⁻¹ incremento 73% y el de 40 mg L⁻¹ supero al testigo un 80% más de la enzima peroxidasa (Figura 4b).

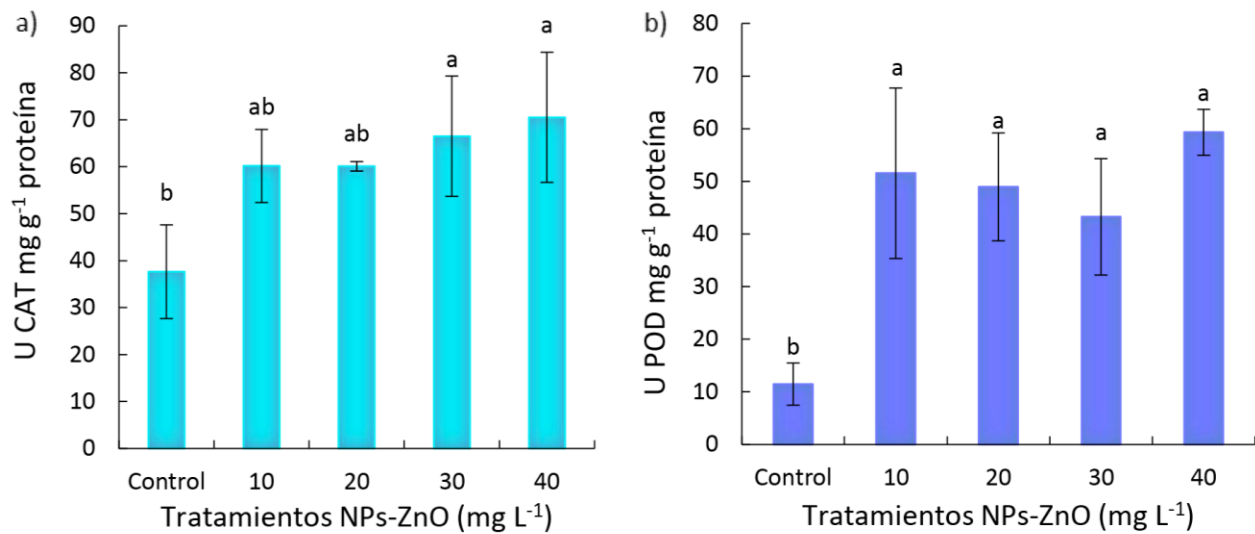


Figura 4. Actividad enzimática. Catalasa (a) y peroxidasa (b) en hojas de lechuga por efecto de la aplicación foliar de NPs-ZnO. Valores con letras distintas indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

DISCUSIÓN

En las hortalizas, se encuentran numerosos compuestos nutraceuticos, por lo que existen diversas oportunidades para el desarrollo de nuevas variedades de vegetales con propiedades nutraceuticas mejoradas. Implementar estrategias destinadas a crear nuevas variedades con contenidos óptimos y beneficiosos de compuestos bioactivos es de gran importancia. Esto se logra con el avance de la nanotecnología, contribuyendo a mejorar la calidad nutraceutica para beneficio de las personas. Por lo tanto, es una gran posibilidad para progresar en la agricultura (Prohens 2014). El cultivo de lechuga es una de las hortalizas de hoja más cultivadas y consumidas en el mundo y en la actualidad ha presentado una alta demanda (Baslam 2013). Por lo que aplicar ciertos microelementos como el zinc eleva su potencial para la alimentación humana.

Hasta la fecha, se han realizado estudios para evaluar los impactos de las NPs-ZnO en el crecimiento y la productividad de las plantas (Faizan *et al.* 2020). En el presente trabajo, la aplicación foliar de NPs-ZnO promovió el desarrollo de las plantas de lechuga. En cuanto al rendimiento, se encontraron resultados similares reportados por Garza-Alonso *et al.* (2023), quienes señalaron que las NPs-ZnO favorecen la ganancia de materia fresca y seca en plantas de lechuga. Este efecto presenta relación con la función del Zn^{2+} como fitoestimulante hormonal, activa la triptófano sintetasa, enzima responsable de la síntesis de triptófano, un aminoácido clave, en la biosíntesis del ácido indolacético (AIA), que es una heteroauxina (Méndez-Argüello *et al.* 2016).

Las aplicaciones foliares de NPs-ZnO resultaron en un aumento en la concentración de zinc. Como las nanopartículas se adhirieron a las superficies de las hojas por la aplicación foliar, se ha logrado aumentar la eficiencia y mayor disponibilidad de nutrientes en las plantas (Nandhini *et al.* 2019). En este sentido, la aplicación foliar de NPs-ZnO es una manera eficiente de enriquecer los cultivos, ya que, al trasladar Zn^{2+} por los tejidos vegetales se provocará una acumulación de este

microelemento, lo que podría ayudar a mejorar la insuficiencia de zinc en la dieta humana (Cakmak y Kutman 2018). La ingesta diaria recomendada (IDR) de zinc es de 11 mg por día para hombres adultos y 8 mg por día para mujeres adultas. La deficiencia de zinc tiene muchas consecuencias, entre ellas un sistema inmunológico débil, infecciones recurrentes, enfermedades mentales y retraso en el crecimiento y la fertilidad (Roohani *et al.* 2013).

En lo que respecta a los compuestos bioactivos, los resultados sobre el aumento de la clorofila y los carotenoides coinciden con lo encontrado por Galindo-Guzmán *et al.* (2022), en plántulas de *Lactuca sativa* L. con la aplicación de nanopartículas. Esto se atribuye a la función del zinc en la síntesis de clorofila, incrementando el índice de color verde en las hojas (Samreen *et al.* 2017). El Zn^{2+} también induce estrés oxidativo y provoca la síntesis de los carotenoides (Mohsenzadeh y Moosavian 2017). Los resultados coinciden con un experimento con NPs-ZnO, a concentración de 25 mg L⁻¹ en lechuga hidropónica evidenciando un aumento en los niveles de los fenoles y flavonoides (Fortis-Hernández *et al.* 2022), esto se puede atribuir a que las NPs metálicas son capaces de inducir cualquier tipo de defensa en la planta, estimulando la producción de metabolitos secundarios, como los fenoles (Hatami *et al.* 2019). Con la aplicación de NPs-ZnO en las lechugas se podría asegurar un contenido adecuado de los flavonoides, esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo (Choque *et al.* 2017). El aumento de la capacidad antioxidante en las plantas de lechuga contribuye a una mayor protección contra el ataque de especies reactivas de oxígeno (Apak *et al.* 2016). El aumento de la vitamina C es crucial, ya que la regeneración de vitamina C protege a las células del daño oxidativo, gracias al aumento del ácido ascórbico (Zahedi *et al.* 2020).

En cuanto a la actividad enzimática, el aumento observado con las nanopartículas se atribuye al papel de la catalasa y peroxidasa como antioxidante enzimático, destinadas a metabolizar las ROS provocadas por el estrés oxidativo y controlando sus posibles impactos en el metabolismo celular de las plantas. El incremento de la catalasa y la peroxidasa es posible gracias a que estas enzimas forman parte del sistema de defensa antioxidante de las plantas (Dimkpa *et al.* 2012).

CONCLUSIONES

La aplicación de NPs-ZnO en lechuga es un factor determinante en el desarrollo y calidad de las plantas. La exposición al estrés metálico inducido por las NPs-ZnO incremento la actividad de las enzimas y moléculas antioxidantes, indicando respuestas fisiológicas positivas frente a este estímulo. Los resultados obtenidos revelan que la concentración de zinc en las plantas aumenta con la aplicación de NPs-ZnO, lo que conlleva a mayor producción de metabolitos. La concentración de 40 mg L⁻¹ mostro mejoras significativas con respecto al grupo control en todas las variables evaluadas, sugiriendo que esta dosis podría ser óptima para obtener máximos beneficios.

AGRADECIMIENTOS

Al Tecnológico Nacional de México por Financiar este Proyecto: 17268.23-P, y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo brindado para realizar estudios de posgrado en México.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

- Aebi HE (1983) Catalase. In: *Methods of enzymatic analysis*. Bergmeyer, HU Editorial Verlag Chemie Weinheim. pp. 273-286.
- Amezcuca RJC, Lara FM (2017) El zinc en las plantas. *Ciencia* 68: 28-35.
- Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E (2016) Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64: 1028-1045. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04743>.
- Bartlett MS (1937) Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A-Mathematical and Physical Sciences* 160: 268-282. <https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0109>.
- Baslam M, Morales F, Garmendia I, Goicoechea N (2013) Nutritional quality of outer and inner leaves of green and red pigmented lettuces (*Lactuca sativa* L.) consumed as salads. *Scientia Horticulturae* 151: 103-111. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.12.023>.
- Blackwell RD, Murray AJS, Lea PJ (1990) Enzymes of photorespiratory carbon pathway. In: Lea PJ (eds) *Methods in plant biochemistry*. Academic Press. USA. pp. 129-144. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-461013-2.50015-0>.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2): 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28: 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Cakmak I, Kutman UA (2018) Agronomic biofortification of cereals with zinc: A review. *European Journal of Soil Science* 69: 172-180. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Castillo-González J, Ojeda-Barrios D, Hernández-Rodríguez A, González-Franco AC, Robles-Hernández L, López-Ochoa GR (2018) Zinc metalloenzymes in plants. *Interciencia* 43(4): 242-248.
- Choque R, Gemio R, Nogales J (2017) Estudio de propiedades moleculares de cuatro flavonoides de *Baccharis boliviensis*. *CON-CIENCIA* 5: 39-56.
- Dimkpa CO, McLean JE, Latta DE, Manangón E, Britt DW, Johnson WP, Anderson AJ (2012) CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *Journal of Nanoparticle Research* 14: 1-15. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1125-9>.
- El-Azeim MN, Sherif MA, Hussien MS, Tantawy AA, Bashandy SO (2020) Impacts of nano and non nanofertilizers on potato quality and productivity. *Acta Ecologica Sinica* 40(5): 388-397. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2019.12.007>.
- Elsheery NI, Helaly MN, El-Hoseiny HM, Alam-Eldein SM (2020) Zinc oxide and silicone nanoparticles to improve the resistance mechanism and annual productivity of salt-stressed mango trees. *Agronomy* 10(4): 558. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040558>.
- Faizan M, Hayat S, Pichtel J (2020) Effects of zinc oxide nanoparticles on crop plants: a perspective analysis. *Sustainable Agriculture Reviews* 41: 83-99. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-33996-8>.

- Fortis-Hernández M, García-Delgado JD, Preciado-Rangel P, Trejo-Valencia R, Sánchez-Estrada A, Fortis-Hernández J (2022) Commercial and phytochemical quality in biofortified 'orejona' lettuce with zinc oxide nanoparticles. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 50: 12969-12969. <https://doi.org/10.15835/nbha50312969>.
- Galindo-Guzmán AP, Fortis-Hernández M, De La Rosa-Reta CV, Zermeño-González H, Galindo-Guzmán M (2022) Síntesis química de nanopartículas de óxido de zinc y su evaluación en plántulas de *Lactuca sativa*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 13: 299-308. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i28.3284>.
- Garza-Alonso CA, Juárez-Maldonado A, González-Morales S, Cabrera-De la Fuente M, Cadenas-Pliego G, Morales-Díaz AB, Benavides-Mendoza A (2023) ZnO nanoparticles as potential fertilizer and biostimulant for lettuce. *Heliyon* 9: e12787. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12787>.
- Gombart AF, Pierre A, Maggini S (2020) A review of micronutrients and the immune system-working in harmony to reduce the risk of infection. *Nutrients* 12: 236. <https://doi.org/10.3390/nu12010236>.
- Hatami M, Naghdi BH, Ghorbanpour M (2019) Nano-elicitation of secondary pharmaceutical metabolites in plant cells. *Journal Medicinal Plants* 18: 6-36. <https://doi.org/10.29252/jmp.3.71.6>.
- Hossain Z, Yasmeen F, Komatsu S (2020) Nanoparticles: synthesis, morphophysiological effects, and proteomic responses of crop plants. *International Journal of Molecular Sciences* 21(9): 3056. <https://doi.org/10.3390/ijms21093056>.
- Iziy E, Majd A, Vaezi-Kakhki MR, Nejadstattari T, Kazemi Noureini S (2019) Effects of zinc oxide nanoparticles on enzymatic and nonenzymatic antioxidant content, germination, and biochemical and ultrastructural cell characteristics of *Portulaca oleracea* L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 88(4): 3639. <https://doi.org/10.5586/asbp.3639>.
- Khan ST, Malik A, Alwarthan A, Rafi SM (2022) The enormity of the zinc deficiency problem and available solutions; an overview. *Arabian Journal of Chemistry* 15(3): 103668. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103668>.
- Lamaison JLC, 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. <https://doi.org/10.4236/ajac.2011.28100>.
- Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
- Lira-Saldivar RH, Méndez Argüello B, Santos Villarreal GDL, Vera Reyes I (2018) Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria* 28(2): 9-24. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>.
- Medina-Lozano I, Bertolín JR, Díaz A (2021) Nutritional value of commercial and traditional lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild relatives: Vitamin C and anthocyanin content. *Food Chemistry* 359: 129864. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129864>.
- Méndez-Argüello BM, Lira-Saldivar RH, Vera-Reyes I (2016) Respuestas fisiológicas de plantas cultivadas en bioespacios por efecto de nanofertilizantes y zeolita. *Agronano Tecnología, México* 62-79.
- Mohsenzadeh S, Moosavian SS (2017) Zinc sulphate and nano-zinc oxide effects on some physiological parameters of *Rosmarinus officinalis*. *American Journal of Plant Sciences* 8: 2635-2649. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.811178>.
- Nandhini MR, Udayashankar SB, Niranjana SR, Sogaard O, Shetty H, Prakash HS (2019) Biofabricated zinc oxide nanoparticles as an eco-friendly alternative for growth promotion and management of downy mildew of pearl millet. *Crop Protection* 121: 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.03.015>.
- Onsa GH, Saari N, Selamat J, Bakar J (2004) Purification and characterization of membrane-bound peroxidases from *Metroxylon sagu*. *Food Chemistry* 85: 365-376. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2003.07.013>.
- Padayatt SJ, Daruwala R, Wang Y, Eck PK, Song J, Koh WS, Levine M (2001) Vitamin C: from molecular actions to optimum intake. In: Cadenzas E, Packer I (eds) *Handbook of antioxidants*. CRC press. Washington DC, USA. pp: 117-145.
- Pascual MR, Pereda CM, Pérez R (1983) Inverse correlation between estrogen receptor content and peroxidase activity in human mammary tumors. *Neoplasma* 30: 611-613.
- Prohens J (2014) Mejora genética de la calidad nutracéutica en hortalizas. *Actas de Horticultura* 65: 26-32.
- Rivera-Gutiérrez RG, Preciado-Rangel P, Fortis-Hernández M, Betancourt-Galindo R, Yescas-Coronado P, Orozco-Vidal JA (2021) Zinc oxide nanoparticles and their effect on melon yield and quality. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 12: 791-803. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2987>.

- Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences* 18(2): 144-157.
- Sachdev S, Ansari SA, Ansari MI, Fujita M, Hasanuzzaman M (2021) Abiotic stress and reactive oxygen species: Generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants* 10(2): 277. <https://doi.org/10.3390/antiox10020277>.
- Samreen T, Shah HU, Ullah S, Javid M (2017) Zinc effect on growth rate, chlorophyll, protein and mineral contents of hydroponically grown mungbeans plant (*Vigna radiata*). *Arabian Journal of Chemistry* 10: S1802-S1807. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.005>.
- Shi M, Gu J, Wu H, Rauf A, Emran TB, Khan Z, Mitra S, Aljohani ASM, Alhumaydhi FA, Al-Awthan YS (2022) Phytochemicals, Nutrition, Metabolism, Bioavailability, and Health Benefits in Lettuce—A Comprehensive Review. *Antioxidants* 11: 1158. <https://doi.org/10.3390/antiox11061158>.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- Steiner AA (1984) The universal nutrient solution. In: International Society for Soilless Culture. Wageningen, The Netherlands. pp: 633-649.
- Steinskog DJ, Tjostheim DB, Kvamsto NG (2007) A cautionary note on the use of the Kolmogorov–Smirnov test for normality. *Monthly Weather Review* 135: 1151-1157. <https://doi.org/10.1175/mwr3326.1>.
- Sun H, Du W, Peng Q, Lv Z, Mao H, Kopittke PM (2020) Development of ZnO nanoparticles as an efficient Zn fertilizer: Using synchrotron-based techniques and laser ablation to examine elemental distribution in wheat grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68(18): 5068-5075. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00084>.
- Yang X, Gil M, Yang Q, Tomás-Barberán FA (2021) Bioactive compounds in lettuce: Highlighting the benefits to human health and impacts of preharvest and postharvest practices. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 21: 4-45. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12877>.
- Zahedi SM, Moharrami F, Sarikhani S, Padervand M (2020) Selenium and silica nanostructure-based recovery of strawberry plants subjected to drought stress. *Scientific Reports* 10: 1-18. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74273-9>.