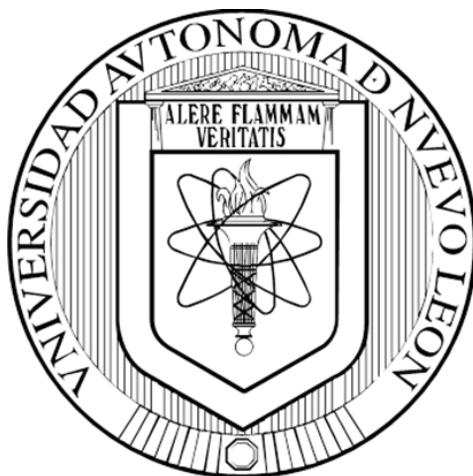


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO EN LA TRANSLOCACIÓN
Y ACUMULACIÓN DE Pb EN CULTIVOS DE MAÍZ (*Zea mays*)**

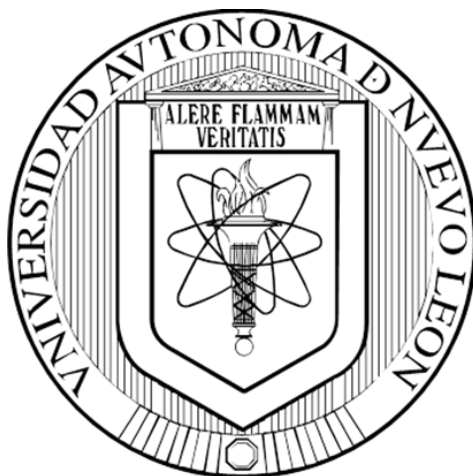
POR

MARYLIN CAPISTRÁN MARTÍNEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA AMBIENTAL**

ENERO, 2020

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO EN LA TRANSLOCACIÓN
Y ACUMULACIÓN DE Pb EN CULTIVOS DE MAÍZ (*Zea mays*)**

POR

MARYLIN CAPISTRÁN MARTÍNEZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA AMBIENTAL**

ENERO, 2020

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO EN LA ACUMULACIÓN Y
TRANSLOCACIÓN DE Pb EN CULTIVOS DE MAÍZ (*Zea mays*)**

Aprobación de tesis:

Presidente

Secretario

Vocal

Subdirectora de Estudios de posgrado

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO EN LA ACUMULACIÓN Y
TRANSLOCACIÓN DE Pb EN CULTIVOS DE MAÍZ (*Zea mays*)**

Revisor de tesis:

Dr. José Martín Rosas Castor

Director de Tesis

Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa

Co-Director de Tesis, UANL

Dra. Laura Hinojosa Reyes

Revisor, UANL

Dra. Isabel del Carmen Sáenz Tavera

Revisor, UANL

Dra. María Concepción García López

Revisor, UANL

Dra. María Elena Cantú Cárdenas

Subdirectora de Estudios de posgrado

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. José Martín Rosas Castor y al Dr. Juan Manuel Alfaro Barbosa quienes a lo largo de esta meta me han asesorado para la elaboración de este trabajo, así como a los miembros del Comité de Tesis, por sus valiosas sugerencias e interés, en la revisión de este trabajo.

Agradezco sinceramente al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización de mis estudios.

Agradezco al Posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) y al área de Ciencias de la Tierra de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de San Luis por permitirme usar sus instalaciones para la elaboración del proyecto.

Agradezco a mis padres y a mi esposo por el apoyo moral que siempre me han brindado y a todas las personas que contribuyeron en una forma u otra en la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres y esposo por su apoyo incondicional

RESUMEN

Nombre: Marylin Capistrán Martínez

Fecha de Graduación: 16 de enero del 2020

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: EFECTO DE LAS APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO EN LA TRANSLOCACIÓN Y ACUMULACIÓN DE Pb EN CULTIVOS DE MAÍZ (*Zea mays*)

Número de páginas: 91

Candidato para el grado de Maestría en Ciencias con Orientación en Química Analítica Ambiental

Área de Estudio: Química Ambiental

Propósito y Método del Estudio:

En el presente trabajo se llevó a cabo la determinación del efecto de las nanopartículas de ZnO como inhibidor de la acumulación y translocación de Pb en cultivos de maíz (*Zea mays*) germinados en suelos enriquecidos (127 mg/kg) y no enriquecidos (35 mg/kg) con Pb, previamente tratados con nanopartícula de ZnO (0-3200 mg/kg). A las plántulas se les determinó la biomasa empleando horno de secado; la concentración de pigmentos fotosintéticos (clorofila (a y b) y carotenos) y la actividad del antioxidante enzimático catalasa con espectrofotómetro UV/Vis; la cuantificación en sus tejidos (hoja, tallo y raíz) de Pb, Zn, Fe, Mn, Ca, Mg, K, P y S empleando espectroscopia de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente; y la determinación de los factores de translocación y bioacumulación.

Contribuciones y Conclusiones:

Los resultados de los experimentos indicaron que los tratamientos con nanopartículas de ZnO inhiben la translocación de Pb en tallo y hoja de la plántula de maíz; principalmente, se observó un incremento significativo ($P=0.05$) de su acumulación en raíz empleando el tratamiento de 400 mg/kg de nanopartícula de ZnO en suelos enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$, lo cual indica, que las nanopartículas de ZnO (400 mg/kg), utilizando las condiciones de estudio, pueden implementarse como enmienda en suelos agrícolas contaminados con Pb y con ello reducir su transferencia al ser humano.

Firma del Asesor: _____

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Contaminación por plomo en suelos y cultivos	1
1.2 Ingreso del Pb a la cadena trófica.....	3
1.3 Riesgos de ingesta de Pb.....	6
2. ANTECEDENTES.....	8
2.1. Aplicación de nanopartículas en la agricultura.....	8
2.2. Efecto de las nanopartículas de ZnO en cultivos	11
2.3. Movilidad e interacción de suelo-planta-nanopartículas de ZnO.....	12
2.4. Propiedades de calidad nutricional en maíz y el efecto de las nanopartículas de ZnO en la calidad nutricional de cultivos.....	14
2.5. Aportación científica	19
2.6. Hipótesis y objetivos	19
3. MARCO TEÓRICO.....	20
3.1. Espectrofotometría de absorción atómica	20
3.2. Espectroscopia de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo	26
4. MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.1 Materiales	32
4.2 Muestreo y obtención de suelo	33
4.3 Caracterización y tratamiento del suelo agrícola	34
4.4 Tratamiento del suelo agrícola	36
4.5 Tratamiento de semillas y cultivo de maíz.....	37

4.6	Evaluación de la fitotoxicidad de las nanopartículas de ZnO en cultivos de maíz.....	38
4.7	Tratamiento estadístico	42
4.8	Disposición de residuos.....	42
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
5.1	Caracterización de suelo	43
5.2	Fitotoxicidad de las nanopartículas de ZnO	44
5.2.1.	Estudio a nivel plántula	44
5.2.2.	Estudio en invernadero.....	50
5.3	Bioacumulación y translocación en la planta de maíz	60
5.4	Tratamiento estadístico	70
	CONCLUSIONES.....	74
	REFERENCIAS.....	77

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Suelos agrícolas contaminados por Pb a nivel mundial [8]	2
Tabla 2. Sitios y cultivos agrícolas reportados contaminados por Pb.....	2
Tabla 3. Concentración de Pb en rocas de la corteza terrestre	4
Tabla 4. Propiedades del suelo que afectan la movilidad de Pb.....	5
Tabla 5. Estudios del efecto de las nanopartículas en cultivos hidropónicos.....	9
Tabla 6. Estudios de efectos e interacción de las nanopartículas de ZnO en plantas cultivadas en suelos	12
Tabla 7. Factores que influyen en la toxicidad de las nanopartículas de ZnO [60].....	14
Tabla 8. Contenido de agua en algunas partes de cultivos agrícolas [61]	15
Tabla 9. Composición general de material vegetal de cultivos agrícolas	15
Tabla 10. Elementos minerales y sus concentraciones promedio.....	16
Tabla 11. Clasificación de los nutrientes, forma de absorción y funciones fisiológicas	16
Tabla 12. Reactivos y procedencia.....	32
Tabla 13. Equipos y condiciones operacionales.....	33
Tabla 14. Coordenadas de zona de muestreo del suelo agrícola en el municipio de Pesquería.	34
Tabla 15. Tratamientos con nanopartículas de ZnO y ZnCl ₂ (control) usados en el cultivo de maíz en suelo agrícola	37
Tabla 16. Parámetros de trabajo empleado para ICP-OES	41
Tabla 17. pH de suelos empleados en cultivo de maíz	50
Tabla 18. Matriz de componentes principales de bioacumulación de Pb en cultivo	71
Tabla 19. Matriz de componentes principales de bioacumulación de Zn en cultivo.....	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de un instrumento de absorción atómica de flama	22
Figura 2. Diagrama de la lámpara de cátodo hueco	22
Figura 3. Quemador de premezcla.....	23
Figura 4. Monocromadores	24
Figura 5. Tubo fotomultiplicador: a) sección transversal y b) circuito eléctrico.....	25
Figura 6. Instrumento típico de espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente	27
Figura 7. Fuente de plasma de acoplamiento inductivo.....	29
Figura 8. Zona de muestreo	34
Figura 9. Triángulo de textura.....	43
Figura 10. Germinación de maíz blanco (E-B) y amarillo (E-A) tratados con nanopartículas (NP) de ZnO.....	45
Figura 11. Germinación de maíz blanco (E-B) y amarillo (E-A) en suelo tratado con ZnCl ₂	46
Figura 12. Índice de detoxificación de maíz amarillo (E-A) y blanco (E-B) tratado con nanopartículas de ZnO.....	48
Figura 13. Índice de detoxificación de maíz amarillo (E-A) y maíz blanco (E-B) tratado con ZnCl ₂	49
Figura 14. Germinación de maíz cultivado en invernadero	51
Figura 15. Biomasa húmeda de maíz blanco cultivado en suelo no enriquecido con Pb(NO ₃) ₂ ..	52
Figura 16. Biomasa seca de maíz blanco cultivado en suelo no enriquecido con Pb(NO ₃) ₂	52
Figura 17. Biomasa húmeda de maíz blanco cultivado en suelo enriquecido con Pb(NO ₃) ₂	54

Figura 18. Biomasa seca de maíz blanco cultivado en suelo enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	55
Figura 19. Índice de detoxificación del maíz blanco cultivado en invernadero	56
Figura 20. Pigmentos fotosintéticos de maíz cultivado en suelo enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	57
Figura 21. Pigmentos fotosintéticos de maíz cultivado en suelo no enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.	58
Figura 22. Actividad de la catalasa en raíz de plántulas de maíz	60
Figura 23. Factor de translocación de Pb y Zn en tallo de maíz.....	62
Figura 24. Factor de translocación de Pb y Zn en hoja de maíz.....	63
Figura 25. Factor de translocación de macronutrientes en tallo de maíz	67
Figura 26. Factor de translocación de macronutrientes en hoja de maíz	67
Figura 27. Factor de translocación de micronutrientes en tallo de maíz	68
Figura 28. Factor de translocación de micronutrientes en hoja de maíz	68
Figura 29. Factor de bioacumulación de Pb y Zn	69

LISTA DE ABREVIATURAS

USEPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

OMS: Organización Mundial de la Salud

NP: Nanopartícula

FAAS: Espectrofotometría de absorción atómica de flama

ICP-OES: Espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente

BCR: Community Bureau of Reference

b: Coeficiente de extinción

A: Absorbancia

T: Tiempo (min)

V: Volumen (mL)

d: factor de dilución

MO: Materia orgánica

LISTA DE NOMENCLATURA

Pb: Plomo

ZnO: Óxido de zinc

ZnCl₂: Cloruro de zinc

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Contaminación por plomo en suelos y cultivos

La contaminación antropogénica de suelo por metales pesados ha sido consecuencia principalmente de las actividades industriales, minería, fundición, refinamiento, uso de aguas residuales como agua de riego, fertilizantes químicos [1], combustión de gasolina con plomo, eliminación de baterías y productos que contiene plomo [2]; es un problema ambiental a nivel global [3] de gran preocupación en los últimos años.

El plomo (Pb) es un metal pesado de alta persistencia en el suelo a consecuencia de que no es biodegradable [4, 5]. Una de las principales preocupaciones de su presencia en suelo es el riesgo de reducción de producción de cultivos, acumulación y translocación en plantas por sus riesgos de ingesta por el ser humano, y sus daños irreversibles a la salud humana [6,7]. A nivel mundial se han reportado suelos agrícolas contaminados por Pb, tal como se muestra en la Tabla 1 [8], se aprecia que China y Bélgica superaban el nivel permisible de Pb en suelo (400 mg/kg) establecido por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA) [9], es importante considerar que las emisiones de Pb al medio ambiente se han incrementado, siendo el suelo el principal sumidero del Pb emitido, lo que representa un gran riesgo.

Tabla 1. Suelos agrícolas contaminados por Pb a nivel mundial [8]

País	Contenido crítico de Pb (mg/kg)
Australia	150
Bélgica	600
China	1000
Dinamarca	120
Francia	100
USA	300
Japón	400

En México, se ha reportado la contaminación de suelos agrícolas por Pb principalmente por el empleo de aguas residuales no tratadas como agua de riego, aplicación de lodos como fertilizantes y por afectación de jales mineros. El Pb acumulado en el suelo es translocado y bioacumulado a las partes de las plantas (raíz, tallo, hoja y fruto), algunos casos se muestran a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2. Sitios y cultivos agrícolas reportados contaminados por Pb

Sitio	Matriz estudiada	Concentración (mg/kg)	Año de elaboración de estudio	Referencia
Zacatecas	Suelo	88 a 350	2006	Hernández et al. [10]
	Frijol	11.2		
	Maíz	11.8		
	Trigo	8.7		
	Avena	5.9		
Tláhuac, Ciudad de México	Suelo	3.74 a 6.42	2008	Pérez et al. [11]
	Brócoli	0.8 a 4.49		
Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca	Suelo	13.7 a 14.3	2011	Bautista et al. [12]
Zumpango, Estado de México	Suelo	87	2015	Pérez et al. [13]
	Agua residual del canal de riego	0.23*		
	Alfalfa	1.6 a 0.7		

*mg/L

Como se observa en los resultados de la Tabla 2, las plantas cosechadas de suelos agrícolas cuya concentración de Pb no supera el nivel máximo permisible por la USEPA ni el establecido en México (400 mg/kg) [14] presentan acumulación de Pb que superan el nivel de referencia de Pb en alimentos (1.3 mg/kg) establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [15], lo que representa un riesgo a la salud humana la ingesta de estos cultivos contaminados. En México, el maíz es uno de los cultivos ampliamente consumido, por tal motivo es de gran relevancia su calidad. A nivel mundial es un alimento básico para más de 200 millones de personas en muchas regiones como América Latina, África subsahariana y el sureste de Asia [16]. El consumo per cápita de los principales países consumidores de maíz alcanzó los 883 millones de toneladas, cifra mayor que lo reportado para trigo (704 millones de toneladas), cebada (134 millones de toneladas) y arroz (723 millones de toneladas) [17]. Este cereal tiene múltiples usos y un alto valor nutrimental, rico en aminoácidos como metionina y cisteína, proporcionando un estimado del 15 y 20% de ingesta mundial de proteínas y calorías, respectivamente [16]. Este cereal es procesado en más de 600 productos, incluyendo tortillas, bebidas y una amplia gama de productos tradicionales y especialidades. En países con alto consumo de maíz, una alta concentración de Pb en grano puede representar un riesgo para la salud humana.

1.2 Ingreso del Pb a la cadena trófica

La presencia de Pb en suelo puede observarse de forma natural y antropogénica, de forma natural en la corteza terrestre existe una abundancia promedio de Pb de 15 mg/kg; su contenido en diversos tipos de rocas (por ejemplo: sedimentarias, ígneas, graníticas, riolita y lutita) varían desde 1 a 30 mg/kg tal como se muestran en la Tabla 3 [18]; las fuentes antropogénicas comunes de contaminación por Pb en suelo son la minería, fundición de minerales, quema de carbón, efluentes industriales de industrias de baterías de almacenamiento, curtido de cuero,

operaciones de acabado galvanizado, fertilizantes, pesticidas y aplicación de aguas residuales contaminadas como agua de riego en cultivos agrícolas [19], lo que genera que se acumule a tal grado que supere el nivel permisible de plomo en suelo de 400 mg/kg por la USEPA [9], representando un gran riesgo a la salud.

Tabla 3. Concentración de Pb en rocas de la corteza terrestre

Rocas	Tipo	Concentración de Pb (mg/kg)
Ígneas	Ultra básica	1
	Roca basalto	6
	Roca granito con alta contenido de calcio	15
	Roca granito con bajo contenido de calcio	19
	Sienito	12
Sedimentaria	Areniscas	12
	Carbonatos	19

La acumulación en suelo puede causar daños graves al ecosistema del suelo debido a su movilidad y biodisponibilidad; sin embargo, su movilidad y especiación depende de su unión con diversos compuestos del suelo (minerales de arcilla, óxidos de hierro, aluminio y manganeso, sustancias húmicas, carbonatos, fosfatos, etc.), superficies reactivas o sitios de unión externos o internos con diferentes energías de unión, también se ve afectado por la modificación de los parámetros fisicoquímicos del suelo que favorezcan su retención en el suelo o incrementen la movilidad del metal, los cuales se indican en ambos casos en la Tabla 4 [20]; por consecuencia, existe el riesgo de transferencia y acumulación a las partes aéreas (frutos) de cultivos agrícolas que tras ser ingeridos representan un riesgo a su salud humana [21].

Tabla 4. Propiedades del suelo que afectan la movilidad de Pb

Parámetro	Efecto
Materia orgánica	Inhibición de movilidad por acomplejamiento con ligandos orgánicos.
pH	Un pH ácido incrementa la movilidad del Pb (especie de Pb^{2+}) y en pH básico se observa la disminución de su movilidad por la formación de hidróxidos de plomo (II).
Contenido de arcilla	El alto contenido de arcilla favorece la acumulación de Pb biodisponible en el suelo a consecuencia de las cargas negativas libres del grupo funcional silanol (Si-O-H) que permiten su interacción con el metal.
Capacidad de intercambio iónico	La capacidad de intercambio del Pb^{2+} disminuye conforme al incremento del pH produciendo un aumento de su movilidad en el suelo.

Como medida de la liberación de Pb al ecosistema de suelo, se han ejecutado y practicado medidas normativas que restringen su liberación, pero aun así los niveles de contaminación son alarmantes. Por tal problemática, en los últimos años se han buscado alternativas para la remediación de suelos contaminados por metales pesados [22]; sin embargo, los métodos físicos y químicos para la remediación y recuperación de suelos empleados en los últimos años son altamente costosos, causan contaminación secundaria en los suelos y algunos requieren de tiempos de tratamientos largos [23]. La remediación de los suelos contaminados empleando los métodos antes mencionados no permiten obtener suelos con las características fisicoquímicas adecuadas para la aplicación en la agricultura.

En los últimos años, se ha evaluado el uso de enmiendas en suelos agrícolas contaminados por metales pesados con la finalidad de inhibir la acumulación y translocación de los mismos en los cultivos agrícolas, disminuir el riesgo de ingreso a la cadena trófica y daños en la salud humana [24]; el empleo de nanopartículas como inhibidores de la movilidad de metales en suelos se ha estado evaluando en los últimos años, se ha reportado que las nanopartículas afectan la

movilidad de los metales pesados en los suelos [25], pero sus conclusiones no pueden ser comparadas por las diferentes condiciones de tratamiento (propiedades fisicoquímicas del suelo, diferente tamaño y concentración de nanopartículas empleadas); concluyen en sus resultados que es necesario profundizar en esta área de estudio con el fin de comprender sus efectos en la movilidad de mismos y en la disminución de acumulación y translocación de los metales pesados en cultivos agrícolas.

1.3 Riesgos de ingesta de Pb

El Pb orgánico puede ingresar al organismo por tres vías, tales como respiratoria, digestiva y dérmica o cutánea; el Pb inorgánico solo ingresa al organismo por las dos primeras vías descritas previamente. La ingesta de Pb por consumo de alimentos cultivados en suelos contaminados por Pb es uno de los principales riesgos investigados [26].

El consumo de Pb (o exposición crónica de Pb) genera reducción de inteligencia, pérdida de memoria a corto plazo, problemas de coordinación, riesgo de enfermedad cardiovascular, daños en el sistema de reproducción humano y daños en el sistema nervioso central [26].

Los daños a la salud humana por Pb se manifiestan a consecuencia de su afinidad a grupos sulfhidrilo y a los sistemas de enzimas dependientes de zinc (Zn) tales como lo son las involucradas en la síntesis de hemoglobina y citocromos, el metabolismo de esteroides y la integridad de la membrana [27].

Los niños son particularmente susceptibles a la intoxicación por Pb a consecuencia de que absorben hasta el 50% del Pb ingerido, a diferencia de los adultos que absorben el 5% de lo ingerido [28]. Por tal motivo, es de gran interés inhibir la acumulación y translocación de Pb a cultivos agrícolas.

Debido a todo lo mencionado en este capítulo, en este estudio se evaluó el efecto de nanopartículas de ZnO como inhibidores de movilidad y translocación de Pb en cultivos de maíz.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1. Aplicación de nanopartículas en la agricultura

Las nanopartículas (NP) pueden ingresar a los sistemas agrícolas a través de diferentes rutas, de forma indirecta, a través del riego de agua contaminada, uso de biosólidos, emisiones atmosféricas derivadas de industrias y de forma directa por la aplicación como fertilizante o plaguicida.

Las nanopartículas se han estudiado no solo por su efecto como inhibidores de movilidad de metales pesados, como se mencionó anteriormente en este escrito. Actualmente, se han estudiado las NP por su efecto sobre las plantas en los procesos de germinación y crecimiento con el fin de promover su uso para aplicaciones agrícolas [25]. Se ha reportado que los efectos de las nanopartículas en la germinación y crecimiento de las plantas depende de la composición química, tamaño y la concentración de las nanopartículas [29]; además, sus efectos pueden variar dependiendo de la especie de planta tratada. Como se puede observar en la Tabla 5, los resultados de algunos estudios de los efectos de varias NP (Ag, ZnO, NiO y TiO₂) usadas en la agricultura varían observándose tanto efectos positivos como negativos en el crecimiento de las plantas.

Tabla 5. Estudios del efecto de las nanopartículas en cultivos hidropónicos

NP	Tamaño (nm)	Planta	Concentración (mg/L)	Efecto observado	Referencia
Ag	5-25	Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>)	5, 10, 20, 40	Inhibición de crecimiento	Lee et al. [30]
Ag	18	Arroz (<i>Oriza sativa</i>)	0.03-0.06	Concentración menor de NP incrementa el crecimiento	Mirzajani et al. [31]
TiO ₂	14 -65.6	Trigo (<i>Triticum aestivum</i> spp.)	100	Acumulación de nanopartículas en raíces	Larue et al. [32]
Ag y ZnO	22.3 -67	Maíz (<i>Zea mays</i>)	0.2	Bioacumulación de NP de Ag e inhibición en el crecimiento de la planta efecto de ambas NP	Pokhrel y Dubbey [33]
TiO ₂ y Ag	20 - 60	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	50	NP de Ag: disminución significativa en el crecimiento de la raíz y biomasa NP de TiO ₂ : Sin alteración en la longitud de la raíz y biomasa	Song et al. [34]
NiO	<50	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	0.025-2	Disminución del crecimiento de raíz	Faisal et al. [35]
ZnO	<100	Cebolla (<i>Allium cepa</i>)	0.025, 0.050, 0.075 y 0.1	Daño celular, alteración cromosómica	Kumari et al. [36]
ZnO	10	Maíz (<i>Zea mays</i>)	0-800	No hay cambios de masa, factor de translocación bajo y acumulación de Zn en la raíz	Zhao et al. [37]

La acumulación de las NP en las plantas genera como efectos negativos la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que provoca por consecuencia mecanismos de defensa a través de enzimas por ejemplo catalasa y ascorbato peroxidasa con el fin de reducir la concentración de ROS [38]; sin embargo, la elevada concentración de ROS genera la disminución de clorofila por consecuencia se reduce la fotosíntesis y hay disminución de la biomasa de la planta [39].

Las NP de TiO_2 y ZnO son las más usadas por sus propiedades en diversas áreas (cosméticos, industriales y productos de cuidado personal) como en la agricultura. Las nanopartículas de ZnO aplicadas en la agricultura como se aprecia en los resultados reportados por **Pokhrel y Dubbey** [33], **Kumari et al.** [36] y **Zhao et al.** [37] varían dependiendo de la especie de planta tratada e incluso se reporta que el efecto sobre una misma especie (maíz) depende del tamaño de nanopartículas empleadas, por lo cual permite observar resultados contradictorios como se indica en dichos casos la variabilidad de la biomasa obtenida, se reporta el factor de translocación bajo e incremento en su acumulación en las raíces lo que deriva en un menor riesgo de ingesta de las NP.

Song et al. [34] indican que el empleo de las NP de TiO_2 en tomate no altera la longitud de raíz ni biomasa, presentando posible utilización en la agricultura; sin embargo, se ha reportado que existe el riesgo de translocación en las plantas representando un riesgo de ingreso a la cadena trófica e ingesta por el ser humano. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasifica al TiO_2 como posible cancerígeno [40], por tal motivo, no es adecuado para uso agrícola.

2.2. Efecto de las nanopartículas de ZnO en cultivos

Las nanopartículas (NP) de ZnO son la cuarta más utilizada a nivel mundial [41]. Las ventajas que ofrecen las NP de ZnO se atribuyen principalmente a sus propiedades exclusivas, incluida la energía de banda prohibida baja (≥ 3.37 eV) y el efecto piezoeléctrico [42]. Estas propiedades permiten una amplia gama de aplicaciones en textiles, cosméticos y electrónica [41]. Por tal motivo, en el 2010 se reportó una producción anual de 30,000 toneladas métricas de NP de ZnO. **Keller *et al.*** [43] predicen que el suelo actuará como depósito del 8 al 28% de las nanopartículas totales generadas. Obviamente, la gran escala de aplicaciones está vinculada a una alta dispersión ambiental, que exige una mejor comprensión de la interacción de estas NP con organismos vivos. En los últimos años se ha estudiado la interacción y efecto de las NP de ZnO con las plantas cultivadas en suelo. En la Tabla 6 se muestran algunos estudios de su interacción. Como se puede apreciar, su efecto en las plantas varía de acuerdo a la especie de planta estudiada. Además, se observa con mayor claridad que los resultados de los estudios de las NP de las Tablas 5 y 6, específicamente las NP de ZnO, difieren de la variación del medio de cultivo (hidropónico o en suelo) empleado en una misma planta, como el maíz; por tal motivo, para comprender mejor su relación y efecto de las NP con los cultivos es necesario profundizar los estudios en cada especie y variando los parámetros ya mencionados en este escrito que afectan su interacción, acumulación y translocación con la planta.

Tabla 6. Estudios de efectos e interacción de las nanopartículas de ZnO en plantas cultivadas en suelos

Planta	Concentración (mg/kg)	Tamaño (nm)	Efecto	Referencia
Lechuga	10	90	Incremento de biomasa y fotosíntesis	Xu et al. [44]
Pepino	1000	90	Disminución de biomasa	Siani et al. [45]
Haba	0.5	10	Daño visual en las hojas y genotoxicidad	Priester et al. [46]
Frijol	1000	<100	Inhibición en el crecimiento de la raíz	Dimpka et al. [47]
Guisante verde	500	10	Decrecimiento de la clorofila y H ₂ O ₂	Mukherjee et al. [48]
Haba	500	<50	Reducción de germinación	Yoon et al. [49]
Maíz	800	90 ± 10	Crecimiento inhibido	Wang et al. [50]
Maíz	800	90 ± 10	Estrés oxidativo	Liu et al. [51]
Maíz	800	10	Reducción de la fotosíntesis y del contenido de clorofila	Zhao et al. [52]

2.3. Movilidad e interacción de suelo-planta-nanopartículas de ZnO

Es importante mencionar que las propiedades fisicoquímicas del suelo como materia orgánica, ácidos húmicos, pH, arcilla y salinidad desempeñan un papel clave en la retención y transporte de los metales; por lo tanto, se espera que estas propiedades impulsen el comportamiento de las NP de ZnO en el suelo. **Jiang et al.** (2012) [53] encontraron que la materia orgánica natural tiende a reducir el tiempo de retención y

facilita el transporte de las NP de ZnO en un medio poroso saturado. La porosidad del suelo también influye en el comportamiento de transporte de las NP de ZnO [54]. **Li y Schuster** (2014) [55] evaluaron el efecto del fosfato en la movilidad de las NP de ZnO en arena saturada con agua representativa de los mantos acuíferos subterráneos, indicaron que la mayor movilidad se observó en relación molar de 0.25 de fósforo/zinc y conforme se aumentaba la relación molar fósforo/zinc disminuía la movilidad de las NP y se acumulaban en la arena.

El pH del suelo, en combinación con ácidos húmicos, determina la agregación y disolución de las NP de ZnO. Es decir, a un pH bajo, los ácidos húmicos cargados negativamente se adsorben en las NP de ZnO con carga positiva, facilitando la agregación. La disolución de las NP de ZnO en el suelo también está influenciada por el contenido de materia. Por ejemplo, los ácidos húmicos han demostrado aumentar la disolución de las NP de ZnO independientemente de las condiciones de pH [56]. La disolución de NP está positivamente correlacionada con el contenido de carbono aromático y peso molecular de la materia orgánica, mientras que está negativamente correlacionado con la relación hidrógeno/carbono y carbono alifático [57]. De acuerdo con la literatura, Zn^{2+} es la forma más biodisponible de Zn en el suelo. Tras la absorción de la planta, las especies de Zn^{2+} directamente interactúan con orgánulos vegetales como mitocondrias y ribosomas, induciendo la formación de especies de oxígeno reactivo (ROS) [58]. Sin embargo, el Zn también es un nutriente esencial para el crecimiento de las plantas; por lo tanto, existe un nivel umbral entre la cantidad óptima y excesiva para las plantas, y este nivel cambiará según el tipo de especie de planta [59].

Venkata et al. [60] reportan los factores bióticos y abióticos que influyen en los efectos de exposición de las NP de ZnO, dichos factores y su efecto (positivo y negativo) en la toxicidad de las NP se muestran a continuación en la Tabla 7, en la cual se puede apreciar que el cultivo de las plantas en suelo expuestas a las NP de ZnO tienen menor riesgo por la disminución de toxicidad de las NP de ZnO por la interacción con los demás factores del suelo antes mencionados que inhiben la movilidad de las NP por lo cual este estudio se enfocará en la interacción en un sistema NP-suelo-planta.

Tabla 7. Factores que influyen en la toxicidad de las nanopartículas de ZnO [60]

Reduce su toxicidad	Incrementa su toxicidad
Surfactantes modificadores	Acidificación
Alcalinidad	Luz
Óxido de nitrógeno	Tiempo de contacto
Temperatura	Cultivo en medio hidropónico

2.4. Propiedades de calidad nutricional en maíz y el efecto de las nanopartículas de ZnO en la calidad nutricional de cultivos

El material vegetal de los cultivos de las plantas superiores como el maíz, está constituido por agua, la cual alcanza valores entre el 80% y 90%, tal como se muestran en la Tabla 8. El agua se encuentra contenida en diferentes proporciones dentro de la planta, dependiendo de la actividad metabólica de cada una de sus partes [61].

Tabla 8. Contenido de agua en algunas partes de cultivos agrícolas [61]

Parte de la planta	Contenido de agua (%)
Hojas	75-85
Raíces jóvenes	92-93
Tallo	90-95
Grano	10-16

El tejido vegetal seco de cultivos agrícolas está compuesto principalmente por carbono, oxígeno e hidrógeno, elementos organogénicos, los cuales constituyen alrededor de 90-98% del total y se encuentran combinados principalmente en carbohidratos, lípidos y proteínas. Entre el 2 y 10% restante, representa la composición mineral. En la Tabla 9, se muestra la composición general del material vegetal de cultivos agrícolas.

Tabla 9. Composición general de material vegetal de cultivos agrícolas

Elemento	Peso seco (%)
Carbono	44-49
Oxígeno	42-46
Hidrógeno	5-7
Elementos minerales	2-20

Las plantas sintetizan sus compuestos metabólicos y estructurales con determinados elementos químicos que se encuentran en el medio que las rodea. El carbono proviene del dióxido de carbono del aire, el cual es incorporado en la materia orgánica a través del proceso de fotosíntesis, mientras que el hidrógeno de la materia orgánica proviene del agua, la cual en general es absorbida del suelo o de los medios nutritivos por las raíces, y el oxígeno necesario para la formación de la sustancia vegetal es tomado tanto de la atmósfera como del agua y sales de nitratos, sulfatos, fosfatos, boratos y carbonatos. Sin embargo, las plantas no pueden subsistir únicamente abastecidas con aire y agua, pues requieren además de varios elementos minerales [62] los cuales se muestran en la Tabla 10, que generalmente son absorbidos del suelo o del medio nutritivo en los cultivos hidropónicos, por las raíces. Son clasificados como elementos esenciales en el crecimiento de cultivos debido a que presentan funciones conocidas dentro del

metabolismo de la planta, no puede ser reemplazado o sustituido totalmente por otro elemento debido a síntomas de deficiencia, y su ausencia impide el desarrollo normal de la planta y esta es incapaz de concluir su ciclo de vida.

En este estudio se determinaron la concentración de K, Mg, P, S, Ca, Mn y Fe presente en diversas partes del tejido vegetal (hoja, raíz y tallo), debido a que son nutrientes esenciales en el desarrollo y crecimiento del maíz. El K, Mg, Ca, P y S son clasificados como macronutrientes debido a que se encuentran en el tejido vegetal seco en concentraciones mayores a 1000 mg/kg; y el Mn y Fe son clasificados como micronutrientes debido a que se encuentran en el tejido vegetal seco en concentraciones menores a 500 mg/kg [63]. La Tabla 11 muestra las funciones fisiológicas en la planta tras su absorción en el sistema suelo-raíz [64].

Tabla 10. Elementos minerales y sus concentraciones promedio

Elemento	Forma disponible al vegetal	Concentración en tejido seco (mg/kg)
Mo	MoO ₄ ²⁻	0.1
Ni	Ni ²⁺	6
Cu	Cu²⁺	6
Zn	Zn ²⁺	20
Mn	Mn ²⁺	50
B	H ₃ BO ₃	20
Fe	Fe³⁺, Fe²⁺	100
Cl	Cl ⁻	100
S	SO ₄ ²⁻	1000
P	H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻	2000
Mg	Mg ²⁺	2000
Ca	Ca ²⁺	5000
K	K ⁺	10000
N	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	15000

*En negritas se indican las formas más comunes de absorción

Tabla 11. Clasificación de los nutrientes, forma de absorción y funciones fisiológicas

Clasificación	Nutriente	Grupo químico	Funciones fisiológicas
---------------	-----------	---------------	------------------------

Macronutriente	K	Metales alcalinos y alcalinotérreos	Activador y cofactor de más de 50 enzimas del metabolismo de carbohidratos y proteínas. Participa en el equilibrio iónico y en la regulación osmótica
	Mg		Participa como cofactor o activador en muchas reacciones enzimáticas. Se asocia al ATP en la transferencia de energía y es componente de la clorofila
	Ca		Importante en la división celular, en la estabilidad de la membrana y pared celular. Asociado con proteínas (calmodulinas) cumple funciones de mensajero secundario
	P	No metálico	Forma parte de los ácidos nucleicos y participa en la síntesis de proteínas. Como constituyente del ATP y muchas coenzimas (NAD, FAD) interviene en todos los procesos metabólicos de transferencia de energía
	S		Se encuentra presente en muchas proteínas y participa en reacciones de intercambio de energía
Micronutriente	Mn	Metales pesados	Constituyente de algunas enzimas y activador de descarboxilasas y deshidrogenasas de la respiración; y cataliza la liberación de oxígeno en la fotólisis del agua
	Fe		Componente de muchas enzimas y juega un papel importante en la transferencia de electrones (reacciones redox), como los citocromos, en las cadenas de transporte electrónico

*ATP: Adenosina trifosfato

*NAD: nicotinamida adenina dinucleótido

*FAD: Flavin adenina dinucleótido

Se han reportado pocos estudios del efecto de las NP en la calidad nutricional de cultivos, en los cuales se observa cómo las NP afectan la absorción de elementos esenciales en el crecimiento

del cultivo (macronutrientes y micronutrientes); por lo tanto, la calidad nutricional aportada en su consumo.

Dimpka et al. (2017) [65] evaluaron el efecto de las NP de ZnO en la eficiencia de absorción de nutrientes (Zn, N, P y K) en sorgo cultivado en suelos. Observaron que las NP de ZnO incrementaron significativamente ($P \leq 0.05$) la acumulación de Zn, N y K en relación con las plantas control.

Zhao et al. (2015) [66] reportaron que el maíz cultivado durante 60 días en suelos tratados con NP de ZnO (tamaño de diámetro: 24 ± 3 nm; tratamientos realizados: 0, 400 y 800 mg/kg), presentaron en los tratamientos un incremento significativo ($P \leq 0.05$) de bioacumulación de Zn en sus tejidos (raíz, tallo y hoja), las plantas de maíz no presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en la absorción de Zn, Fe, B, Mn, Al, Ca, Mg, S y K en ambos tratamientos (400 y 800 mg/kg) a comparación del control; pero, disminuyeron significativamente ($P \leq 0.05$) la acumulación de P en su tratamiento con 400 y 800 mg/kg en suelo; y la acumulación de Na empleando el tratamiento de 400 mg/kg en comparación del control.

Zhao et al. (2014) [67] evaluaron la acumulación de macronutrientes (K, Ca, Mg, S, P, Na, Fe, Cu, Mn, Mo y Zn) en pepino cultivado en suelos tratados con NP de ZnO (tamaño de diámetro: 100 nm; tratamientos empleados: 800 y 400 mg/kg) e indicaron que las NP de ZnO no afectan significativamente ($P \leq 0.05$) su acumulación en la fruta. **Peralta et al.** (2018) [68]. Evaluaron la absorción de nutrientes (Fe, Mn, Mg) por soja cultivados con 50, 100 y 500 mg/kg de NP de ZnO. Indicaron que los tratamientos con NP de ZnO (50, 100 y 500 mg/kg) inhiben la acumulación de Fe significativamente ($P \leq 0.01$) en las hojas; se incrementó la acumulación de Mn en la raíz en el tratamiento de 100 mg/kg de NP de ZnO; e indicaron que los tratamientos con NP de ZnO disminuyen la acumulación de Mg en raíz con respecto a su control significativamente ($P \leq 0.05$).

Debido a que aún no se han realizado suficientes estudios para la evaluación de parámetros relacionados con la acumulación de minerales usando NP de ZnO como aditivo agrícola y a la importancia del maíz en la cadena trófica de las poblaciones en México. En este proyecto se propone estudiar el uso de las NP de ZnO como fertilizante no convencional en cultivos de maíz, evaluando la tasa de cambio de absorción de macro y micronutrientes, así como la tasa de transferencia de contaminantes iónicos como el Pb.

2.5. Aportación científica

Inhibición de la toxicidad por Pb en cultivos de maíz (*Zea mays*) mediante la aplicación de nanopartículas (diámetro: 90 ± 10 nm) de ZnO mediante la reducción de la biodisponibilidad y translocación del metal.

2.6. Hipótesis y objetivos

HIPÓTESIS: Las nanopartículas de ZnO (diámetro: 90 ± 10 nm) a concentración de 400 mg/kg disminuye la biodisponibilidad y disminuye la translocación de Pb en cultivos de maíz (*Zea mays*).^{[UdW1][MCM2]}

OBJETIVO GENERAL: Evaluar el efecto de las nanopartículas de ZnO en la biodisponibilidad y translocación de Pb en plantas de maíz (*Zea mays*).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Caracterizar fisicoquímicamente el suelo (valores de pH, conductividad, concentraciones totales de Pb y Zn, materia orgánica y concentración de Pb en las fracciones del suelo (biodisponible y residual) mediante_BCR).
- b) Cultivar en suelo las semillas de maíz en presencia de Pb^{2+} expuesto a diferentes concentraciones de nanopartículas de ZnO (0-3200 mg/kg) durante 8 semanas.
- c) Evaluar los parámetros de toxicidad en las plantas de maíz (longitud de las plántulas, raíces, hojas y tallo), concentración de pigmentos fotosintéticos (clorofilas (a y b) y carotenos) y actividad de la catalasa.
- d) Determinar la concentración de Pb en raíces, tallos y hojas empleando digestión ácida e ICP-OES.
- e) Determinar los factores de bioacumulación y translocación de Pb en maíz y su correlación con otros parámetros evaluados por Análisis de Componente Principal.

CAPÍTULO 3

MARCO TEÓRICO

3.1. Espectrofotometría de absorción atómica

La espectrofotometría de absorción atómica (denominada por sus siglas en inglés, AAS) se basa en el principio en que los diversos átomos absorben radiación a cierta longitud de onda característica de cada elemento, lo que propicia que pase de su estado basal a un estado excitado, posteriormente, los átomos regresan a su estado fundamental, emitiendo cierta radiación. La técnica de espectrofotometría de absorción atómica se basa en la medición de la radiación absorbida, sin considerar la emitida por los átomos [69]. La técnica de espectrofotometría de absorción atómica de flama (FAAS) genera la excitación de los átomos empleando como fuente de calor una flama.

La técnica de FAAS consiste en que la muestra en solución es aspirada e introducida a una flama donde es atomizada, convirtiendo al elemento en solución en vapor atómico. De esta manera, la flama presenta átomos del elemento de interés; algunos de los átomos son excitados térmicamente por la temperatura de la flama, pero la mayoría permanece en estado fundamental. Los átomos en estado fundamental pueden absorber radiación de determinada longitud de onda generada en una fuente emisión que contenga ese mismo elemento. Las longitudes de onda de la radiación emitida por la fuente son las mismas que absorben los átomos en la flama [70].

La determinación de la concentración de un elemento en una muestra se realiza mediante la elaboración de una curva de calibración empleando soluciones estándares de concentración conocida del analito de interés que tras ser analizadas por FAAS se obtienen las absorciones correspondientes del analito de acuerdo a su concentración presente en los estándares. Se grafica la absorbancia (y) en función de la concentración en la solución estándar (x), se obtiene la ecuación de la recta lineal, los valores de la pendiente (b) y la ordenada al origen (a); posteriormente, se emplean dichos valores para la determinación de la concentración del analito de interés en la solución de la muestra (x) despejando de la ecuación de la recta [71], tal como se muestra en las Ecuaciones 1 y 2.

$$y = a + bx \quad (1)$$

$$x = \frac{y - a}{b} \quad (2)$$

El equipo de espectrofotometría de absorción atómica de flama consiste en una fuente de emisión, quemador, monocromador y detector [72]; tal como se muestra en la Figura 1. Como fuente de emisión, la lámpara de cátodo hueco (HCL) se emplea comúnmente en FAAS, consiste en un cátodo cilíndrico hueco hecho del elemento que se va a determinar y un ánodo de tungsteno. Ambos están encerrados en un tubo de vidrio, el cual contiene a presión reducida un gas inerte (argón o neón). Entre los electrodos se aplica un voltaje que causa la ionización de los átomos del gas inerte en el ánodo, estos iones positivos son acelerados hacia el cátodo negativo, y cuando lo bombardean hacen que algo del metal se desprenda y se evapore. Los átomos del metal vaporizado se excitan a niveles electrónicos más altos debido a las continuas colisiones con los iones gaseosos de alta energía, cuando los electrones regresan a su estado fundamental emiten las líneas características de ese elemento metálico, estas líneas emitidas atraviesan la

flama y pueden ser absorbidas por el elemento que se analiza debido a que poseen exactamente la energía necesaria (longitud de onda adecuada) para producir transiciones electrónicas discretas. En la Figura 2 se muestran las partes que componen la HCL.

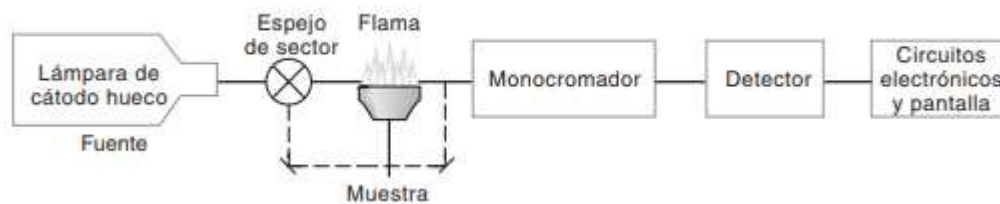


Figura 1. Diagrama de un instrumento de absorción atómica de flama

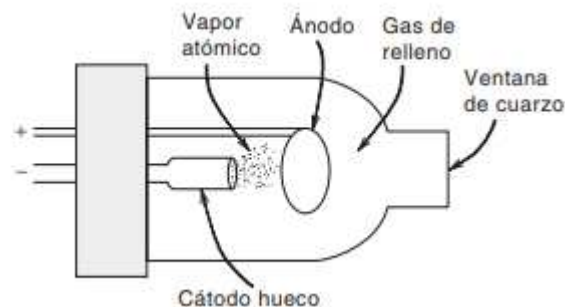


Figura 2. Diagrama de la lámpara de cátodo hueco

El quemador que se emplea principalmente es el quemador con cámara premezcla o también conocido como quemador de flujo laminar [73], el cual se muestra en la Figura 3. El combustible y los gases de soporte se mezclan en una cámara antes de entrar a la cabeza del quemador, donde posteriormente se queman. La muestra tras ser aspirada e ingresada al quemador, se divide y forma una aspersion fina cuyo proceso se denomina nebulización. Las gotas del aerosol se mezclan con los gases de combustión y entran a la flama.

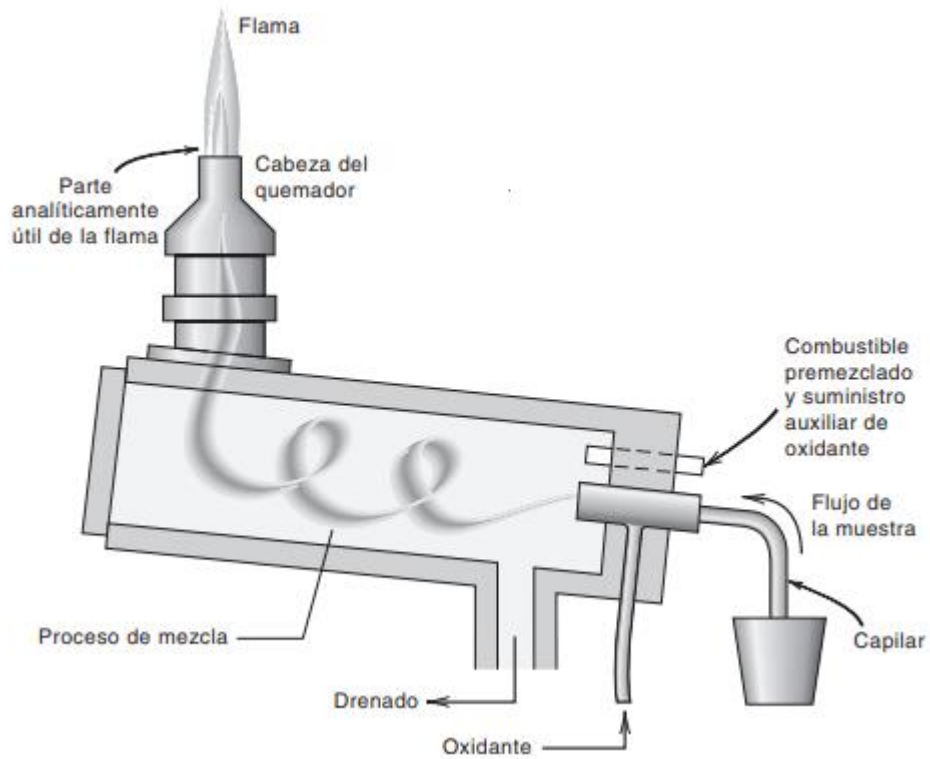


Figura 3. Quemador de premezcla

Los monocromadores tienen como función realizar barridos espectrales, es decir, permiten variar de forma continua y en un amplio intervalo la longitud de onda de la radiación. Los monocromadores se componen por una rendija de entrada, un lente colimador o un espejo, un prisma o red, un focalizador y rendija de salida [74].

La rendija de entrada proporciona una imagen óptica rectangular, un lente colimador o un espejo produce un haz paralelo de radiación, el prisma o la red dispersa la radiación en sus longitudes de onda individuales, el elemento focalizador forma de nuevo la imagen de la rendija de entrada y la enfoca en una superficie plana denominada plano focal; y la rendija de salida en el plano focal que aísla la banda espectral deseada [75].

Unos de los monocromadores empleados en FAAS son de tipo red, por ejemplo, Ebert y de Czerney-Turner, los cuales se muestran en la Figura 4. Como se observa, ambos monocromadores son de tipo red.

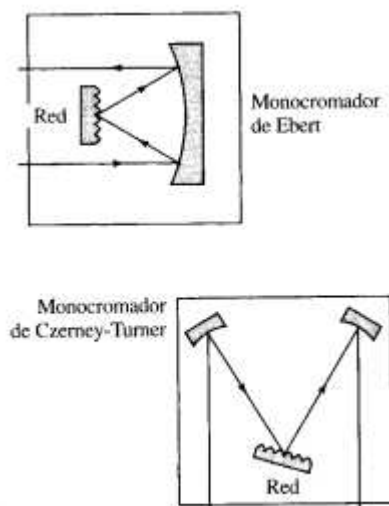


Figura 4. Monocromadores

El detector es un dispositivo que convierte la energía radiante en una señal eléctrica. El detector debe tener una elevada sensibilidad, relación señal/ruido, respuesta constante en un intervalo considerable de longitudes de onda, tener un tiempo de respuesta rápido, una señal de salida igual a cero en ausencia de iluminación y la señal producida por el transductor debería ser directamente proporcional a la potencia radiante [76].

El tubo fotomultiplicador es empleado comúnmente como detector en FAAS [77], es clasificado como detector de fotones, contienen una superficie fotoemisora, así como varias superficies adicionales denominadas dínodos que emiten una cascada de electrones cuando son alcanzadas por los electrones procedentes del área fotosensible, tal como se muestra en la Figura 5. El dínodo 1 mantiene una potencia de 90 V más positivo que el del cátodo y, por tanto, los electrones se aceleran hacia él. Al incidir sobre el dínodo, cada fotoelectrón origina la emisión

de varios electrones adicionales; estos a su vez son acelerados al dínodo 2, el cual está a 90 V más positivo que el dínodo 1. De nuevo por cada electrón que incide en la superficie se emiten varios electrones. Este proceso se repite nueve veces, originando de 10^6 a 10^7 electrones por cada fotón incidente; esta cascada de electrones se recoge al final en el ánodo y la corriente resultante se amplifica electrónicamente y se mide.

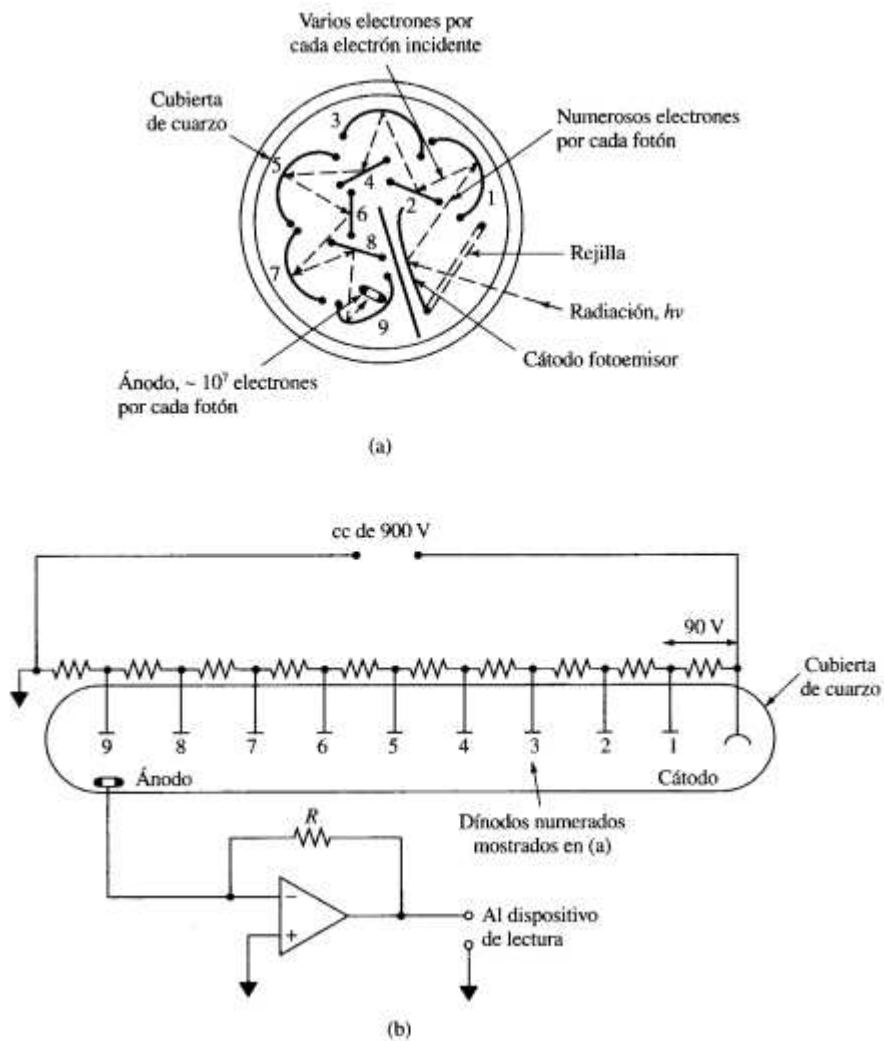


Figura 5. Tubo fotomultiplicador: a) sección transversal y b) circuito eléctrico

3.2. Espectroscopia de emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo

La espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) se fundamenta en que mediante la energía de un plasma los átomos se excitan, cuando los átomos excitados regresan a su estado basal liberan radiación de emisión (espectros de radiación) que corresponden a la longitud de onda del fotón. El tipo de elemento se identifica basándose en la posición de la radiación fotónica, y la concentración de cada elemento se determina en función de la intensidad de la radiación [78].

El procedimiento del equipo ICP-OES consiste en que las muestras líquidas son ingresadas comúnmente mediante el uso de un nebulizador a un plasma de argón inducido por radiofrecuencia [79]. La muestra líquida es convertida en un aerosol mediante el proceso de nebulización, la cuál al estar en el plasma es desolvatada, vaporizada, atomizada, excitada o ionizada por la alta temperatura de la antorcha. Los átomos e iones excitados emiten su radiación característica que es recogida por un dispositivo que clasifica la radiación por longitud de onda. La radiación se detecta y se convierte en señales electrónicas [80]. Las mediciones de un solo elemento se pueden realizar de manera accesible mediante la utilización de la combinación de un monocromador y tubo fotomultiplicador; pero si se realizan varias determinaciones simultáneas de diversos elementos se usa la combinación de un policromador y un detector de matriz [81]. En la Figura 6 se muestra una representación típica del instrumento de ICP-OES.

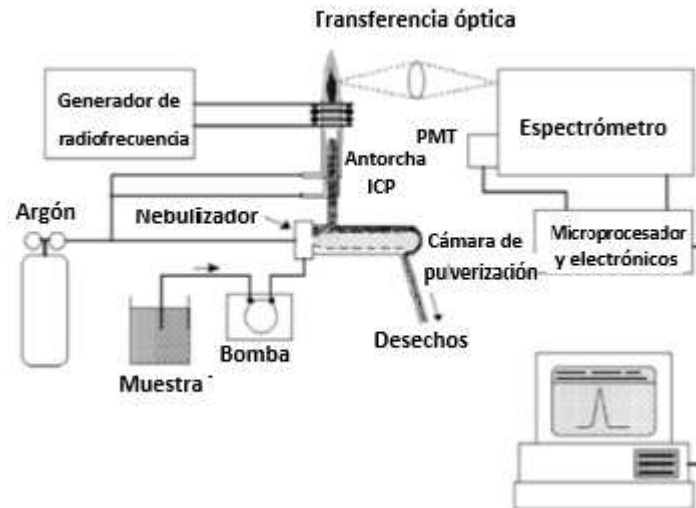


Figura 6. Instrumento típico de espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente

Los dispositivos comúnmente utilizados para introducir la muestra a la antorcha de ICP son los nebulizadores. Los nebulizadores son dispositivos que convierten un líquido en un aerosol que puede ser transportado a la antorcha de ICP, el sistema ideal de introducción de muestra sería aquel que transporte toda la muestra de forma reproducible [82]. Comúnmente se emplea el nebulizador ultrasónico, debido a que permite la obtención de bajos límites de detección ante otros nebulizadores; sin embargo, es susceptible a los efectos de la matriz, alta carga de sólidos en la muestra y no es resistente a HF [83]. En la nebulización ultrasónica, la muestra líquida se bombea a un transductor piezoeléctrico oscilante. Las oscilaciones rompen la muestra en un aerosol fino [84].

Como se ha mencionado anteriormente, el equipo de ICP-OES emplea como fuente de ionización el plasma de acoplamiento inductivo (ICP). La Figura 7 muestra un esquema de una fuente típica de plasma de acoplamiento inductivo denominada antorcha. Como se puede observar consiste en tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluyen corrientes de argón. Rodeando

la parte superior del tubo más grande se encuentra una bobina de inducción, refrigerada por agua, que está alimentada por un generador de radiofrecuencia, capaz de producir una potencia de 0.5 a 2 kW a unos 27 o 41 MHz. La ionización del argón que fluye se inicia por medio de una chispa que proviene de una bobina de Tesla. Los iones resultantes y sus electrones asociados interactúan entonces con el campo magnético oscilante producido por la bobina de inducción. Esta interacción hace que los iones y los electrones dentro de la bobina se muevan en trayectorias circulares, el calentamiento óhmico es consecuencia de la resistencia que presentan los iones y electrones a este movimiento.

La temperatura del plasma así formado es lo suficientemente elevada como para hacer necesario el aislamiento térmico del cilindro exterior de cuarzo. Para lograrlo, se hace fluir argón de forma tangencial alrededor de las paredes del tubo, este flujo enfría las paredes interiores del tubo central y centra el plasma radialmente.

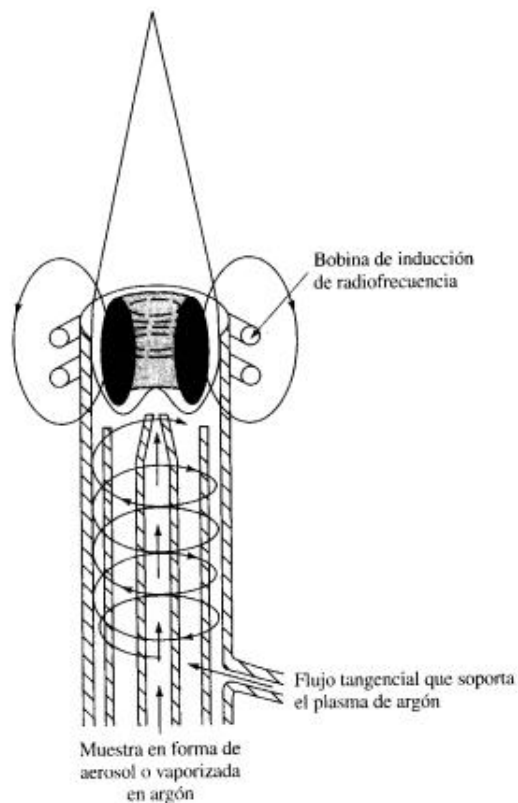


Figura 7. Fuente de plasma de acoplamiento inductivo

Las principales ventajas analíticas del ICP sobre otras fuentes de excitación son su gran capacidad de vaporización, atomización, eficiente excitación e ionización, y reproducibilidad para una amplia gama de elementos en diversas matrices de muestras. Esto se debe principalmente a la elevada temperatura en las zonas de observación (7000 - 8000 K) del ICP, a diferencia de otras fuentes empleadas basadas en descargas eléctricas (arcos y chispas de corriente continua o alterna) el ICP presenta menor ruido lo que indica baja emisión de fondo, contiene una alta densidad de electrones (10^{14} - 10^{16} electrones/cm³), apreciable grado de ionización para análisis simultáneo de múltiples elementos (más de 70 elementos), alta sensibilidad que conduce a una excelente precisión, límites de detección bajos (0.1 – 100 ng/mL), amplio rango lineal

dinámico, y además, el ICP es una fuente sin electrodos, por lo que es posible descartar la contaminación por impurezas en el material de electrodo [85].

La zona analítica del plasma se muestrea para la medición espectrofotométrica, es decir, se detecta y capta la emisión obtenida de esa zona mediante una visión radial, la radiación generalmente se recoge mediante un enfoque óptico, como un lente convexo o un espejo cóncavo. Esta óptica enfoca la imagen del plasma en la ranura de entrada del dispositivo de dispersión de longitud de onda. Se diferencia la radiación de emisión de otros elementos y moléculas que no sean de interés con respecto a los analitos de interés. Las dispersiones físicas de las diferentes longitudes de onda se realizan mediante red de difracción, prismas y filtros; comúnmente, se emplea la red de difracción [86].

La red de difracción de reflexión es un espejo con líneas espaciadas estrechamente o grabadas en su superficie. Cuando la luz incide sobre este, se difracta en un ángulo que depende de la longitud de onda de la luz y la densidad de la red. En general, cuanto más larga sea la longitud de onda y densidad de la red, mayor será el ángulo de difracción [84]. Para separar la luz policromática, la red es incorporada en un instrumento óptico llamado espectrómetro.

El espectrómetro tiene como función captar la radiación policromática y formarla en un haz bien definido, dispersarla de acuerdo con la longitud de onda empleando una red y enfocar la radiación monocromática dispersa en un plano de salida. Posteriormente, se emplean una o más ranuras de salida para permitir que ciertas longitudes de onda pasen al detector mientras bloquea otras longitudes de onda [87]. El detector tiene como función medir las intensidades de las longitudes de onda; por último, la información es procesada por el sistema informático [80].

El equipo ICP-OES permite realizar análisis multielemental, con bajos límites de detección (mg/L) y en cortos periodos de tiempo; sus desventajas son su alto costo de compra y operacional por la cantidad de gas argón empleada en los análisis.

CAPÍTULO 4

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

Los reactivos empleados en la elaboración del proyecto se muestran en la Tabla 12, en la cual se indica la procedencia de cada uno. En la Tabla 13 se indican los equipos empleados y sus condiciones operacionales para los análisis propuestos. Las nanopartículas de ZnO tenían una pureza del 99.5% y todos los demás químicos usados en este estudio fueron de grado analítico.

Tabla 12. Reactivos y procedencia

Reactivos	Procedencia
Agua destilada	CTR scientific, Nuevo León, México
HNO ₃ 14 mol/L	
HCl 12 mol/L	
H ₂ O ₂ 30 % m/v	
Acetato de amonio	
Hidrocloruro de hidroxilamina	
Pb(NO ₃) ₂	
ZnCl ₂	
Nanopartículas de ZnO (diámetro: 90 ± 10 nm)	
NaClO	
Acetona 80 % v/v	
Fosfato de potasio	
EDTA	
Polivinilpirrolidona	
Tritón X-100	
CaCl ₂	

Tabla 13. Equipos y condiciones operacionales

Equipos	Condiciones de operación
Espectroscopia de absorción atómica de flama	Pb ($\lambda_{trabajo}$): 283.3 nm Rango de trabajo: 7-50 mg/L Sensibilidad: 0.16 ppm LOD: 1.2 ppm LOQ: 3.8 ppm
Espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente	Flujo nebulizador: 0.50 L/min Potencia: 1150 W Velocidad de bombeo peristáltico: 45 rpm Tiempo de descarga: 45 s

*LOD: Límite de detección

*LOQ: Límite de cuantificación

4.2 Muestreo y obtención de suelo

Las muestras de suelo se obtuvieron mediante un muestreo sistemático, tomadas a una profundidad de 0-30 cm en la zona agrícola del municipio de Pesquería en Nuevo León, México y se trataron de acuerdo con las indicaciones de la NMX-AA-132-scfi-2016 [88]. En la Tabla 14 se muestran las coordenadas del sitio de muestreo y en la Figura 8 se indica la ubicación del campo agrícola empleado para el estudio.

El municipio de Pesquería en Nuevo León, México colinda con los municipios de General Zuazua, Marín y Doctor González; al este con el municipio de Los Ramones; al sur con los municipios de Cadereyta Jiménez y Juárez; y al oeste con el municipio de Apodaca; ocupa el 0.5 % de la superficie del estado de Nuevo León; cuenta con 219 localidades y una población total de 87,168 habitantes [89]. El suelo del municipio de Pesquería es empleado para agricultura (67 %) y zona urbana (2 %) [90]. Kastañozem (30.2 %), Vertisol (24.5 %), Calcisol (19.5 %), Leptosol (14.8 %), Chernozem (6.8 %), Fluvisol (2.1 %) y Luvisol (0.8 %) son los tipos de suelos predominantes en la región [91]. La zona agrícola de muestreo presenta un clima semicálido subhúmedo con lluvias

escasas todo el año (100 %), por lo que el riego en canal en la agricultura se utiliza la mayor parte del año.

Tabla 14. Coordenadas de zona de muestreo del suelo agrícola en el municipio de Pesquería

Latitud	Longitud
25.77825223240243	-100.01413187994467

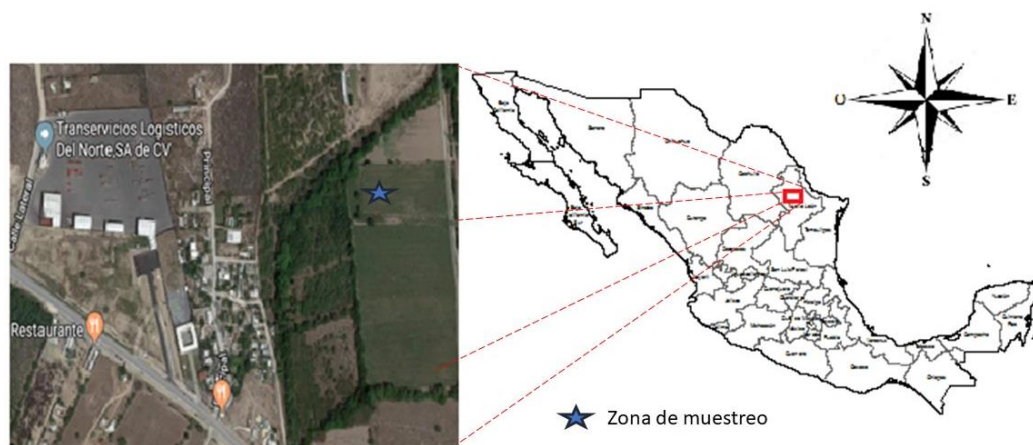


Figura 8. Zona de muestreo

4.3 Caracterización y tratamiento del suelo agrícola

Las muestras de suelo fueron secadas a temperatura ambiente, homogenizadas y tamizadas para la determinación de textura, pH, conductividad y materia orgánica (%); cada tratamiento se realizó de acuerdo a las indicaciones de la NOM-021-RECNAT-2000 [92] con el propósito de establecer si la muestra de suelo obtenida es adecuada para la realización de actividad agrícola.

4.3.1. Análisis de textura

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (denominada por sus siglas en inglés, FAO) indica que el análisis de textura de suelo se refiere a la proporción

relativa de las clases de tamaño de partícula (arena (63-2000 μm), limo (2-63 μm) y arcilla (<2 μm)) en un volumen de suelo dado y se describen como una clase de textura del suelo [93].

El análisis de textura se realizó mediante el procedimiento de Bouyoucos establecido en la NOM-021-RECNAT-2000 [92]. Se emplearon 120 g de suelo previamente homogenizado, se trató con H_2O_2 para eliminar la interferencia de materia orgánica presente, se calentó hasta sequedad, se trató con oxalato de sodio y metasilicato de sodio durante 15 min, posteriormente se mantuvo en agitación constante por 5 min. Al finalizar el tiempo de agitación se colocó en una probeta agregando agua destilada hasta completar 1 L, se agitó la suspensión por 1 min y posteriormente, se tomaron las lecturas con el hidrómetro a los 40 s y después de 2 h. La lectura a los 40 s es multiplicada por 2 para la obtención del porcentaje de arcilla y limo, dicho valor se resta de 100 para obtener el porcentaje de arena. La lectura a las 2 h multiplicada por 2 indica el porcentaje de arcilla presente en el suelo. Con los porcentajes de limo, arena y arcilla obtenidos se determina la textura correspondiente con el triángulo de texturas establecido por la FAO [93].

4.3.2. Determinación de pH y conductividad

La medición de pH en el suelo es muy importante ya que influye en las reacciones químicas y biológicas en el suelo, su medición es afectada por la cantidad de sustituyentes orgánicos e inorgánicos y la concentración de sales puede afectar la acidez del suelo. La determinación de la conductividad eléctrica de un suelo es uno de los índices más empleados para la evaluación de la concentración de sales inorgánicas solubles en agua presentes en el suelo a nivel laboratorio [92], por tal motivo en este trabajo se realizó su determinación.

Se determinó el pH del suelo potenciométricamente y la conductividad eléctrica empleando un conductímetro, ambos estudios se realizaron a partir del sobrenadante de una suspensión de una mezcla de suelo y agua (relación 1:2).

4.3.3. Determinación de la concentración de Pb en suelo

Se determinó la concentración de plomo (Pb) en el suelo de acuerdo con las indicaciones (tratamiento, digestión y cuantificación (espectroscopia de absorción atómica de flama, denominado FAAS) del método 3050A (placa de calentamiento a 95 °C) de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (denominado por sus siglas en inglés, USEPA) [93]; Además, se evaluó la fracción biodisponible de Pb en suelo empleando el método de extracción secuencial de las Comunidades Europeas (denominado por sus siglas en inglés, BCR) empleando ácido acético 0.11 M, hidrocioruro de hidroxilamina 0.5 M, peróxido de hidrógeno al 30 % con acetato de amonio 1 M; y agua regia (reactivos comprados en CTR scientific, Nuevo León); para la determinación de las fracciones intercambiables, reducible, oxidable y residual respectivamente. En la determinación de concentración total de Pb en suelo se empleó para control de calidad el material de referencia estándar 2710a del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (denominado por sus siglas en inglés, NIST) (suelo Montana I) para validar la digestión y el método analítico.

4.4 Tratamiento del suelo agrícola

Al finalizar la caracterización del suelo, se les realizó tres tratamientos empleando $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (127 mg/kg), ZnCl_2 (0, 100, 200, 400, 800, 1600 y 3200 mg/kg) y nanopartículas (NP) de ZnO (0, 100, 200, 400, 800, 1600 y 3200 mg/kg) con el fin de enriquecer a los suelos, los reactivos empleados fueron comprados en CTR scientific, Nuevo León. Las suspensiones de NP de ZnO se sonicaron durante 30 min para evitar agregación [94]. Se añadieron suspensiones de cada reactivo a los suelos y se almacenaron por 20 días a humedad constante con el fin de obtener en los suelos las concentraciones deseadas. Las concentraciones presentes de cada uno de los tratamientos empleados en los suelos se muestran en la Tabla 15; los suelos obtenidos se emplearon para el cultivo de maíz en incubadora e invernadero.

Tabla 15. Tratamientos con nanopartículas de ZnO y ZnCl₂ (control) usados en el cultivo de maíz en suelo agrícola

Concentración de Pb en suelo agrícola de Pesquería (mg/kg)	Tipo de experimento	NP de ZnO (mg/kg) / ZnCl ₂ (mg/kg)							
		0	100	200	400	800	1600	3200	
35±4.5*	Incubadora	0	100	200	400	800	1600	3200	
127±5.5	Incubadora	0	100	200	400	800	1600	3200	
35±4.5*	Maceta	0	200	400	800	1600	-	-	
127±5.5	Maceta	0	200	400	800	1600	-	-	

NP: Nanopartículas; * concentración de fondo

4.5 Tratamiento de semillas y cultivo de maíz

Las semillas de maíz (*Zea mays L.*) se encuentran entre las 10 especies recomendadas por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (por sus siglas en inglés, USEPA) para la determinación de los efectos ecológicos de pesticidas y sustancias tóxicas [93], comúnmente empleadas en las pruebas de fitotoxicidad, por lo que en este estudio se emplearon para evaluar la fitotoxicidad de las NP de ZnO.

Las semillas de maíz que se emplearon en este estudio se sumergieron en una solución de NaClO 10% p/v durante 10 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente [95], este proceso se realizó con la finalidad de asegurar la esterilidad de la superficie de la semilla.

Finalizada la esterilización de las semillas se emplearon para el cultivo de maíz en suelo en incubadora e invernadero. Se cultivó en incubadora a 28 °C sin presencia de luz durante 7 días, posteriormente se cosecharon; en invernadero se cultivó el maíz a temperatura de 25-30 °C, con un periodo de luz solar de 12 h durante 8 semanas, manteniendo la humedad de los suelos se mantuvo a la capacidad del campo de cada maceta empleada, posteriormente se cosecharon.

Después de cosechar el maíz en ambos casos se midieron las longitudes de raíz, tallo y hoja de las plántulas obtenidas; se separaron raíces, tallos y hojas, se lavaron con agua desionizada, se secaron a temperatura ambiente y se pesaron para la determinación de biomasa húmeda; posteriormente, se secaron en horno de secado a 70 °C por 48 h, para posteriormente pesarlos y determinar su biomasa seca [95]. La tercera hoja y raíz de la plántula obtenida en cada tratamiento en el invernadero se conservó a 4 °C, para su posterior análisis.

4.6 Evaluación de la fitotoxicidad de las nanopartículas de ZnO en cultivos de maíz

4.6.1. Determinación de pigmentos fotosintéticos

Este estudio se realizó solo para las plántulas de maíz cultivadas en el invernadero por la falta de biomasa de las plantas a nivel incubadora, se descartaron estos estudios. La tercera hoja de cada plántula cultivada en el invernadero obtenida de cada tratamiento realizado con las NP de ZnO se emplearon para la determinación de clorofila (a y b) y carotenoides. Se maceraron 0.05 g de la hoja con 1 mL de acetona al 80 %v/v (comprado en CTR scientific, Nuevo León), se colocó el macerado en 9 mL de acetona al 80 %v/v se conservó en oscuridad a 4 °C por 60 min; posteriormente, se recuperó el sobrenadante mediante filtración. Los extractos obtenidos se midieron con espectrofotómetro UV/Vis a 663.2, 646.8 y 470 nm [96]. Las concentraciones de clorofila (a y b) y carotenoides se determinaron empleando las ecuaciones descritas por **Singh et al.** (2017) [97], las cuales se muestran a continuación (Ecuación 3, 4 y 5); es importante mencionar que A es la absorbancia obtenida en las longitudes de onda indicadas.

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g/mL}) = 12.21 \times A_{663} - 2.81 \times A_{645} \quad (3)$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g/mL}) = 20.13 \times A_{645} - 5.03 \times A_{663} \quad (4)$$

$$\text{Carotenoides } (\mu\text{g/mL}) = [1000 \times A_{470} - 3.27(\text{Clorofila a}) - 104(\text{Clorofila b})]/198 \quad (5)$$

4.6.2. Determinación de la actividad de la catalasa

Este estudio se realizó solo para las plántulas de maíz cultivadas en el invernadero por la falta de biomasa de las plantas a nivel incubadora, se descartaron en estos estudios. La tolerancia de las plantas ante el estrés por metales está relacionado con su capacidad de mantener sistemas antioxidantes eficientes que permitan eliminar o desintoxicar el exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS), los cuales son tóxicos en células y tejidos de la planta [98]; en este estudio se evaluó el nivel de actividad del antioxidante enzimático catalasa (CAT) en respuesta a las concentraciones variables de Pb y de las NP de ZnO; se determinó la actividad de CAT en los tejidos de la raíz de las plántulas de maíz obtenidas de cada tratamiento del invernadero. La CAT es una importante enzima antioxidante responsable de la conversión de H_2O_2 a H_2O y O_2 [99].

El extracto crudo para la determinación de CAT se obtuvo empleando 0.5 g de raíz fresca homogenizada en una relación de 1:10 p/v en 5 mL de buffer de fosfato de potasio de 100 mM (pH 7.8) conteniendo EDTA 0.1 mM, polivinilpirrolidona (PVP) 1 % p/v y Tritón X-100 0.5 % v/v; manteniendo el buffer a 4 °C durante el análisis; se filtró el extracto y se centrifugó a 1200 rpm por 20 min, se recuperó el sobrenadante; posteriormente, se mezclaron 20 μL del extracto obtenido con 980 μL de H_2O_2 a 10 mM preparada en buffer de fosfato de potasio de 25 mM. Los extractos obtenidos se midieron con espectrofotómetro UV/Vis a 240 nm, tomando lectura de la absorbancia cada 15 s por 3 min [100]. Se determinó la actividad enzimática empleando el coeficiente de extinción (b) de $39.4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$, las ecuaciones empleadas (Ecuación 6 y 7) se muestran a continuación.

$$A/T = (A_{\text{máxima}} - A_{\text{mínima}})/T_{\text{total}} \quad (6)$$

$$\text{Umol/mL/min} = [(A/T) * (V_{\text{reacción}}) * (d)] / [(V_{\text{muestra}}) * (b)] \quad (7)$$

Donde se observa que A es la absorción obtenida de la diferencia de las absorbancias mínimas y máximas obtenidas de las lecturas, T es el tiempo total empleado en el estudio en min, V es el volumen de la solución en mL y d es el factor de dilución empleado para cada análisis.

4.6.3. Digestión de tejidos y cuantificación de elementos

Este estudio se realizó solo para las plántulas de maíz cultivadas en el invernadero por la falta de biomasa de las plantas a nivel incubadora, se descartaron en estos estudios. Se determinó la concentración de Pb, Zn, Fe, Mn, Ca, Mg, K, P y S en las raíces, tallos y hojas de las plántulas cosechadas en el invernadero. Las raíces se lavaron tres veces con agua desionizada y posteriormente fueron lavadas con una solución de CaCl_2 de 5 mM para eliminar el Zn adsorbido en la superficie de la raíz, posteriormente se secaron a 70 °C por 72h. Posteriormente, las secciones de las plántulas secas se trituraron con molino vibratorio, se homogenizaron y se almacenaron en ausencia de luz [101].

Se digirieron 0.2 g del tejido (raíz, tallo u hoja) triturado con 4 mL de HNO_3 concentrado en placa de calentamiento por 45 min a 115 °C. Las muestras digeridas se diluyeron a 50 mL con agua desionizada y posteriormente se emplearon para la determinación de Pb junto con macronutrientes y micronutrientes mediante espectroscopia de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (denominado por sus siglas en inglés, ICP-OES) [102]. Los parámetros de ICP-OES empleados para la cuantificación se muestran en la Tabla 16; para el control de calidad se utilizó el material de referencia estándar 1573a del Instituto Nacional de Estándares y

Tecnología (denominado por sus siglas en inglés, NIST) (hojas de tomate) para validar la digestión y el método analítico.

Tabla 16. Parámetros de trabajo empleado para ICP-OES

Parámetro	Condiciones de trabajo
Flujo de nebulizador	0.50 L/min
Potencia	1150 W
Velocidad de bombeo peristáltico	45 rpm
Tiempo de descarga	45 s

4.6.4. Parámetros de toxicidad y transferencia

La evaluación de toxicidad de las nanopartículas de ZnO se puede realizar mediante el análisis de los resultados de longitud de las plántulas. Los datos obtenidos de la longitud de las plántulas cultivadas en incubadora e invernadero se emplearon para determinar el índice de detoxificación (denominado, ID), el cual es la relación existente entre la altura del tallo tratado con respecto a la altura del tallo del control [103], la Ecuación 8 empleada se muestra a continuación.

$$ID = ([\text{Altura}]_{\text{tallo (tratamiento)}} / [\text{Altura}]_{\text{tallo (control)}}) \quad (8)$$

Con los resultados obtenidos de la concentración de Pb, Zn, macronutrientes y micronutrientes se determinó el factor de translocación (FT) [103] de cada uno de ellos para hoja y tallo, el cual consiste en determinar la relación que hay entre la concentración presente del metal en la parte aérea del tejido con respecto a la concentración del metal en la raíz; además, para Pb y Zn se determinó el factor de bioacumulación (FBA) [103], el cual consiste en determinar la relación

entre la concentración del metal presente en la raíz con respecto a la concentración del metal en el suelo de cultivo. Las ecuaciones correspondientes a los factores de acumulación y translocación se muestran a continuación (Ecuación 9 y 10, respectivamente).

$$FT= [\text{Metal}]_{\text{parte aérea}}/[\text{Metal}]_{\text{raíz}} \quad (9)$$

$$FBA= [\text{Metal}]_{\text{raíz}}/[\text{Metal}]_{\text{suelo}} \quad (10)$$

4.7 Tratamiento estadístico

En este trabajo cada tratamiento se realizó por triplicado y los resultados se presentaron como media \pm desviación estándar. En el análisis estadístico de los datos experimentales se utilizó la prueba *t* de Student y Análisis de Varianza (ANOVA). Se empleó software IBM SPSS Statistics versión 21 para la elaboración de análisis multivariante, específicamente análisis de componente principal (denominado, ACP), con el propósito de determinar los componentes que expliquen la mayor variación en los datos.

4.8 Disposición de residuos

Se dispusieron los residuos generados en este estudio de acuerdo al programa establecido de manejo y residuos peligrosos de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización de suelo

El análisis de textura del suelo agrícola obtenido del municipio de Pesquería, Nuevo León, indicó que contenía 20% de arena, 10% de limo y 70% de arcilla, El suelo fue clasificado como arcilloso de acuerdo al triángulo de textura (Figura 9) de la FAO [104].

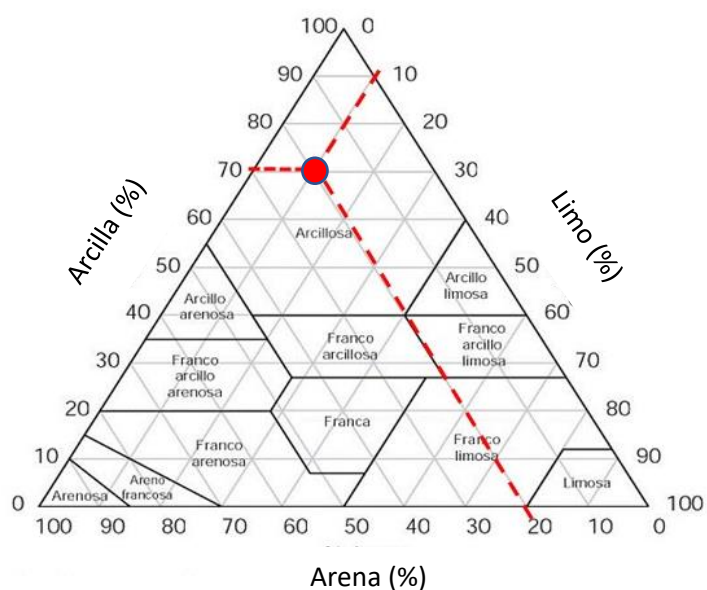


Figura 9. Triángulo de textura

Los resultados obtenidos de la determinación de pH indicaron que el suelo presentó un pH de 7.7 ± 0.1 , que de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000 [92], el suelo es clasificado como medianamente alcalino (pH de 7.4-8.5). Así mismo, el suelo presentó una conductividad de $1102 \pm 1.5 \mu\text{S/cm}$, que de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000 [92], es clasificado como un suelo

con conductividad despreciable ($<1000 \mu\text{S}/\text{cm}$), adecuado su uso para la actividad agrícola. Además, el suelo presentó 3.27 % m/m de MO debido a que es un suelo no volcánico, se clasificó como nivel medio de acuerdo a lo establecido por la NOM-021-RECNAT-2000 [92] indicando que el suelo presentó bajos sitios activos de quelación con metales, lo cual incrementa la posibilidad de la acumulación o translocación de metales o nutrientes a la planta.

El suelo presentó una concentración de plomo (Pb) total de $35.3 \pm 4.5 \text{ mg}/\text{kg}$, no superando el límite permisible de Pb en suelo agrícola ($400 \text{ mg}/\text{kg}$) tal como lo indica la NOM-021-RECNAT-2000 [92], el estudio de extracción secuencial indicó que presentaba el 78 % de concentración total de Pb en la fracción biodisponible integrada por la fracción intercambiable (12 %), reducible (33 %) y oxidable (33 %); y un 22 % en la fracción residual indicando un posible riesgo de translocación y acumulación de Pb a las plantas.

5.2 Fitotoxicidad de las nanopartículas de ZnO

5.2.1. Estudio a nivel plántula

5.2.1.1. Germinación

Se determinó la germinación (%) de maíz blanco y amarillo obtenido de cada tratamiento con las nanopartículas (NP) de ZnO, en los dos tipos de suelos (enriquecido o no enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$). Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 10 donde se puede apreciar que el porcentaje de germinación del maíz amarillo cultivado en suelo enriquecido y no enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ presentó un decremento con la aplicación de los tratamientos con las NP de ZnO (100, 200, 400, 800, 1600 y 3200 mg/kg). El maíz blanco presentó mayor germinación que la variedad amarilla, principalmente la cultivada en suelo enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ y tratado con 200 mg/kg de NP de ZnO y la cultivada en suelo no enriquecido a 1600 mg/kg. La variedad blanca

de maíz blanco debido a su mayor germinación ante las concentraciones al Pb y a las NP de ZnO fue seleccionada para experimentos posteriores a nivel invernadero (0 a 1600 mg/kg de NP de ZnO).

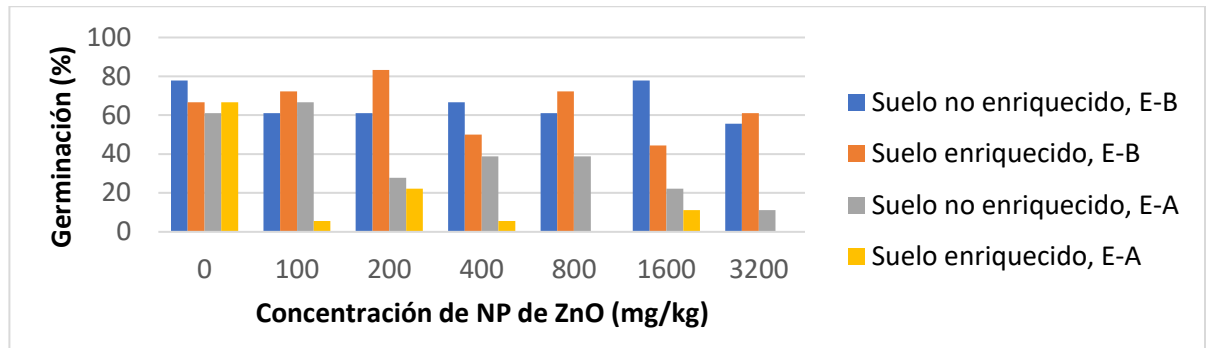


Figura 10. Germinación de maíz blanco (E-B) y amarillo (E-A) tratados con nanopartículas (NP) de ZnO

En el estudio se evaluó el efecto de la movilidad de Zn^{2+} en su biodisponibilidad en los suelos empleados hacia la planta de maíz (blanco y amarillo) en periodos de tiempo corto con una sal de $ZnCl_2$ ante las NP de ZnO, los resultados obtenidos de la germinación del uso de $ZnCl_2$ se muestran en la Figura 11. El $ZnCl_2$ ante las NP es más biodisponible para las plantas en periodos de tiempos cortos debido a que por el tamaño nanoparticulado prolonga la biodisponibilidad del Zn^{2+} en las plantas por la interacción de las NP con diferentes componentes del suelo (silicatos y materia orgánica) que las adsorben generando su disminución en la biodisponibilidad hacia las plantas en su interacción a corto tiempo. El tratamiento con $ZnCl_2$ afecta de manera similar al porcentaje de germinación para maíz blanco y amarillo, para todos los tratamientos (100 - 3200 mg/kg) el porcentaje de germinación son menores que el tratamiento control, por lo que, se concluye que la germinación de estas variedades es más afectada por la disponibilidad del Zn^{2+} que por su adición en tamaño nanoparticulado.

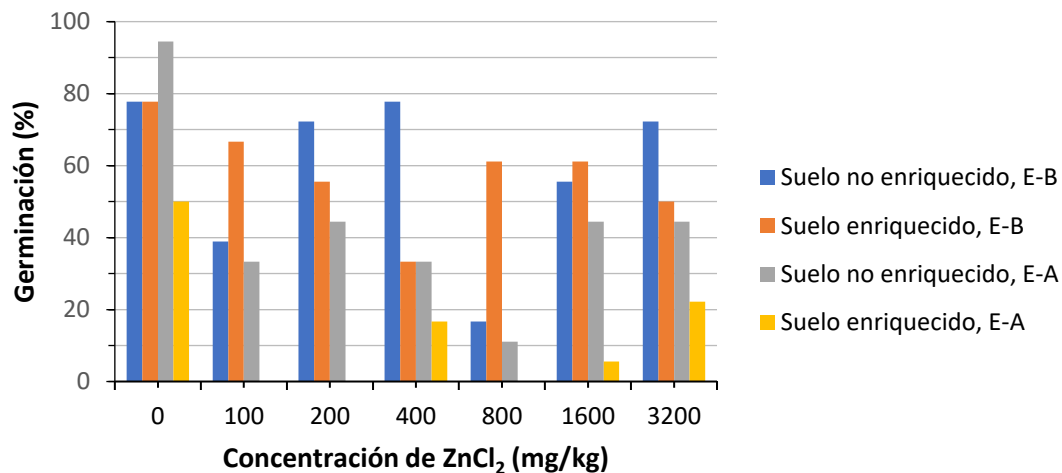


Figura 11. Germinación de maíz blanco (E-B) y amarillo (E-A) en suelo tratado con ZnCl₂

No se observaron diferencias en la germinación de maíz sobre la aplicación de ZnCl₂ y NP de ZnO.

Wang et al. (2013) [105] reportaron que los tratamientos con ZnCl₂ y NP de ZnO (diámetro de NP: 10 nm) en el crecimiento de judía (*Vigna unguiculata L.*) en suelos no presentó diferencias significativas ($P=0.05$) en su efecto tóxico en germinación; y **Zhang et al.** (2015) [106] indicaron que los tratamientos de 1000 mg/kg de NP de ZnO (diámetro de NP: 30 ± 12 nm) y ZnCl₂ en maíz (*Zea mays L.*) no mostraron efectos tóxicos significativos ($P<0.05$) sobre la germinación del cultivo, presentando en el tratamiento con NP de ZnO germinación $>85\%$ con respecto al control empleado. Sin embargo, a diferencia de los resultados obtenidos con la forma de Zn más soluble empleada **Venkata et al.** (2016) [107] reportaron el empleo de diferentes concentraciones (50 - 2000 mg/kg) de NP de ZnO (diámetro de NP: 25 nm) y ZnSO₄ en el crecimiento de cultivo de maíz, observaron mayor germinación (80%) de maíz a 1500 mg/kg de NP de ZnO y a 2000 mg/kg con ZnSO₄. La comparación del estudio realizado con lo reportado en la literatura nos indica que es necesario profundizar en el estudio de las NP de ZnO en diversos sistemas ambientales.

5.2.1.2. Índice de detoxificación

Se determinó el crecimiento de los cultivos y con ello el índice de detoxificación de las plántulas tratadas con nanopartículas de ZnO y ZnCl₂ (relación de crecimiento respecto al tratamiento control). Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 12 y 13, respectivamente. En general, el desarrollo de la variedad blanca, fue mayor que la variedad amarilla presentando en todos los casos índices de detoxificación superiores a 1 y particularmente altos a 200 mg/kg.

El maíz blanco cultivado en suelo no enriquecido con Pb(NO₃)₂ presentó índices de detoxificación más altos a todas las concentraciones de NP de ZnO utilizadas (100-3600 mg/kg), indicando que las NP de ZnO favorecen el desarrollo del cultivo; sin embargo, los resultados sugieren que el desarrollo de la plántula de maíz blanco es afectada cuando la concentración es mayor en el suelo agrícola (127 mg/kg, Figura 12). El maíz amarillo, aunque a niveles del índice de detoxificación menores, presentó un decremento significativo ($p = 0.05$) en la altura del cultivo a todas las concentraciones de NP (100-3600 mg/kg) con el incremento de la concentración de Pb a 127 mg/kg. Lo anterior indica que el maíz amarillo tiene una capacidad de detoxificación menor que la variedad blanca y que alguna etapa en la ruta de detoxificación (almacenamiento, transporte o secreción) sea común para ambos metales y que a pesar del efecto benéfico del Zn al crecimiento, la suma de ambas concentraciones (Pb²⁺ y Zn²⁺) lleve a saturar el sistema más rápidamente durante el desarrollo del cultivo.

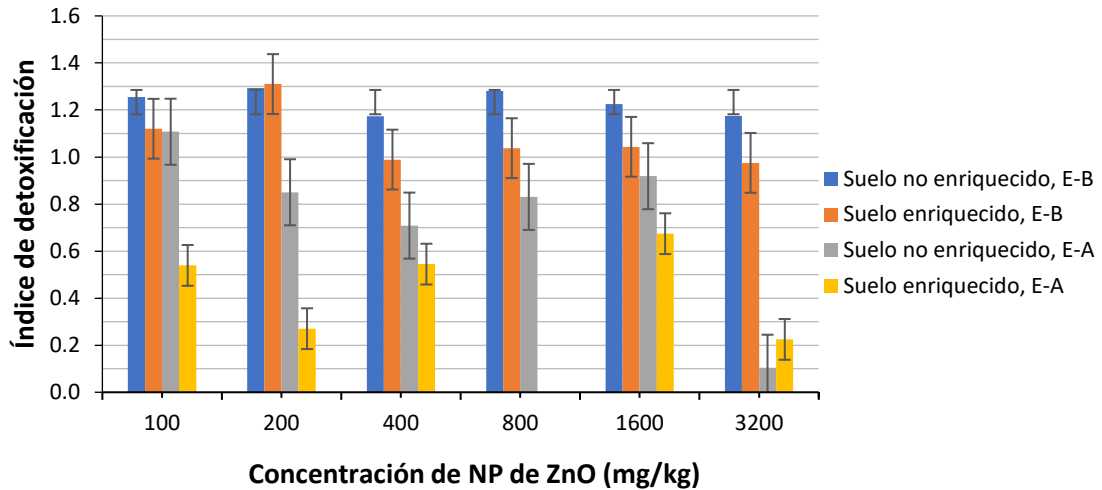


Figura 12. Índice de detoxificación de maíz amarillo (E-A) y blanco (E-B) tratado con nanopartículas de ZnO

Para evaluar el efecto de la concentración de Zn sin el aporte de su adición en forma nanoparticulada, se realizó el tratamiento de las plántulas de maíz amarillo y blanco con una forma más soluble de zinc (Zn^{+2} , añadiendo $ZnCl_2$) en suelos enriquecidos o no enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$. En la Figura 13, se puede observar que el efecto de los tratamientos no incrementó el desarrollo de los cultivos a diferencia de los tratamientos en forma de NP. De igual manera, el maíz se desarrolló mejor a menores niveles de Pb, a concentraciones bajas de Zn y la variedad blanca presentó mejores resultados. El maíz blanco cultivado en suelos enriquecidos y no enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$ mostraron índices de detoxificación mayores a 1 en los tratamientos de $ZnCl_2$ a 100 a 1600 mg/kg. Sin embargo, en ambos casos se observó un índice de detoxificación inferior a 1 bajo el tratamiento de 3200 mg/kg (0.80-0.82), lo cual, comparado con los resultados obtenidos del tratamiento con NP de ZnO (ID 0.97-1.17), indica que, a esta concentración, la adición de Zn en forma nanoparticulada reduce el oxidativo del maíz propiciados por su cultivo zonas agrícolas contaminadas con Pb dentro del intervalo 35 a 127 mg/kg de suelo agrícola.

El maíz amarillo cultivado en suelos enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ mostraron índices de detoxificación menores a 1 en todos los tratamientos empleados con ZnCl_2 ; esto puede ser consecuencia del efecto de toxicidad de los iones presentes en el medio de cultivo (Zn^{2+} y Pb^{2+}) en el crecimiento de la plántula. El maíz amarillo cultivado en suelos no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ mostraron índices de detoxificación mayores a 1 en los tratamientos de 200, 400, 800 y 1600 mg/kg de ZnCl_2 , principalmente en el tratamiento de 800 mg/kg. Estos resultados indicaron que el maíz amarillo presentó elevada sensibilidad tóxica ante la forma nanoparticulada y la forma iónica de Zn presente en el medio de cultivo.

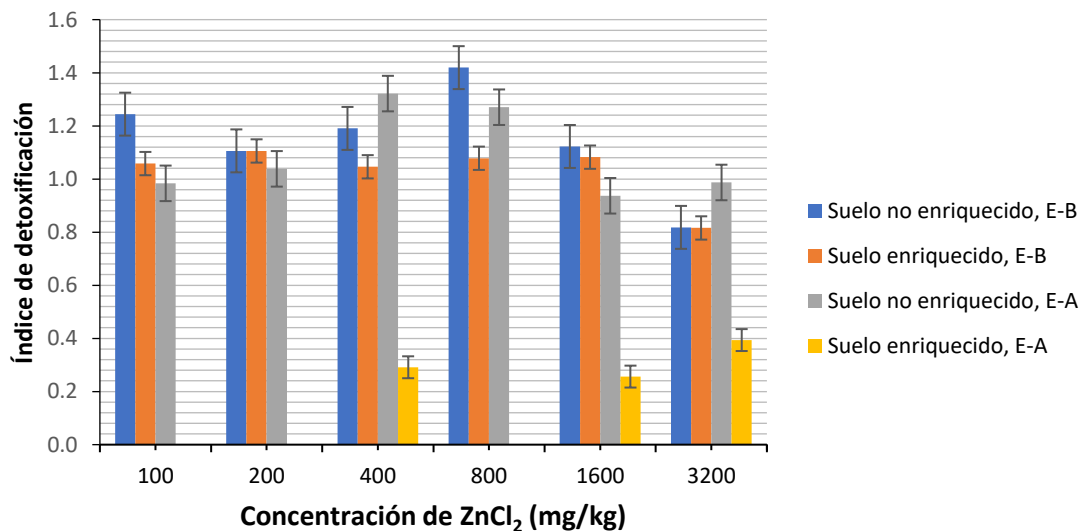


Figura 13. Índice de detoxificación de maíz amarillo (E-A) y maíz blanco (E-B) tratado con ZnCl_2

A diferencia de los resultados obtenidos en este estudio, **Zhang et al.** (2015) [106] reportaron que el tratamiento de 1000 mg/kg de NP de ZnO (diámetro de NP: 30 ± 12 nm) disminuyó significativamente ($P < 0.05$) un 17 % la longitud de la raíz del maíz (*Zea mays L.*) con respecto al blanco.

5.2.2. Estudio en invernadero

5.2.2.1. Caracterización de suelo

A los suelos obtenidos de cada maceta del invernadero se les realizó la medición de pH de acuerdo con la NMX-021-RECNAT-2006 [92]. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 17, los datos de pH se analizaron mediante un el método ANOVA e indicó que presentaron diferencias significativas ($P=0.05$) en el pH los suelos tratados con nanopartículas (NP) de ZnO indicando que el tratamiento con NP de ZnO modifican el pH del suelo. Estos resultados son similares a los reportados por **Watson *et al.*** (2015) [108] y **Dimkpa** (2018) [109], los cuales indicaron que el incremento de la concentración de NP de ZnO aumenta el pH del medio de cultivo.

Tabla 17. pH de suelos empleados en cultivo de maíz

Tratamiento con NP de ZnO (mg/kg)	Suelo enriquecido con $Pb(NO_3)_2$	Suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$
0	8.2 ± 0.1	8.3 ± 0.1
200	8.1 ± 0.1	8.4 ± 0.2
400	8.2 ± 0.1	8.3 ± 0.1
800	8.6 ± 0.1	8.3 ± 0.1
1600	8.5 ± 0.1	8.6 ± 0.1

* \pm DS (Desviación estándar)
Análisis por triplicado (n=3)

5.2.2.2. Germinación

A diferencia del cultivo de maíz blanco en incubadora, el maíz blanco cultivado en suelo enriquecido con $Pb(NO_3)_2$ presentó elevados porcentajes de germinación en los tratamientos de 800 y 1600 mg/kg de nanopartículas (NP) de ZnO y en suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$ a 1600 mg/kg de NP de ZnO, posiblemente atribuido al incremento del tiempo de cosecha, debido a que la planta de maíz emplea el Zn como micronutriente para su desarrollo, ya que el Zn forma

quelatos y se incorpora en los grupos prostéticos de enzimas, es un componente esencial y activador de numerosas enzimas; y necesario para la biosíntesis de la clorofila [110]; por lo cual, es evidente que la plántula tras 8 semanas de cultivo requiera concentraciones más grandes de NP de ZnO para el crecimiento y desarrollo de la plántula de maíz. Los resultados de este estudio se muestran en la Figura 14.

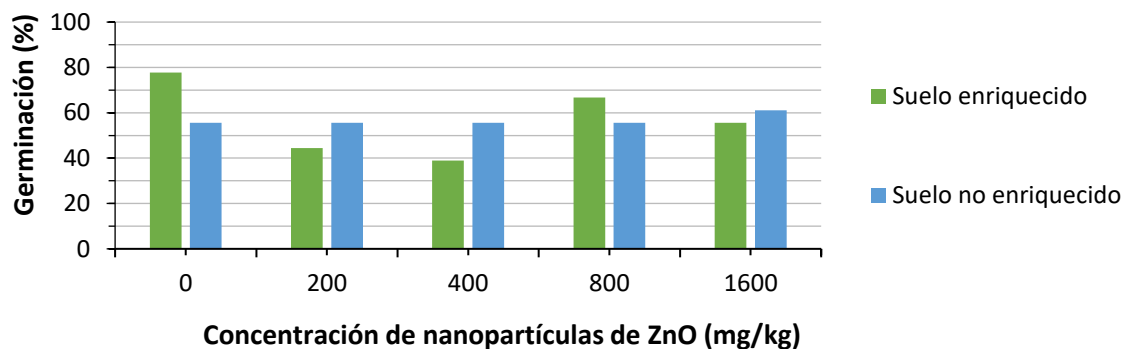


Figura 14. Germinación de maíz cultivado en invernadero

5.2.2.3. Biomasa de cultivo

Cultivo de maíz en suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$

En las Figuras 15 y 16, se muestran los resultados obtenidos de la determinación de biomasa húmeda y seca de maíz blanco cultivado en suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$, respectivamente. Los resultados obtenidos se trataron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA). Se puede apreciar que el tratamiento de 400 mg/kg de nanopartículas (NP) de ZnO incrementó

significativamente ($P=0.05$) la biomasa húmeda y seca de raíz, tallo y hoja de la plántula; comparada contra los otros tratamientos realizados.

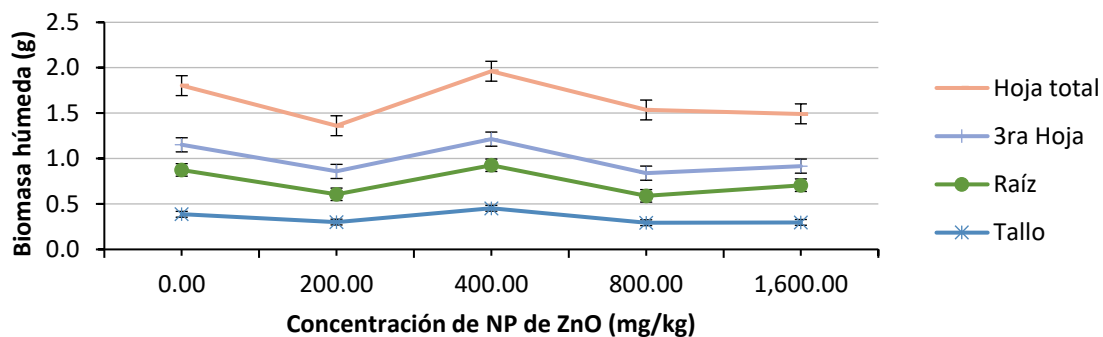


Figura 15. Biomasa húmeda de maíz blanco cultivado en suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$

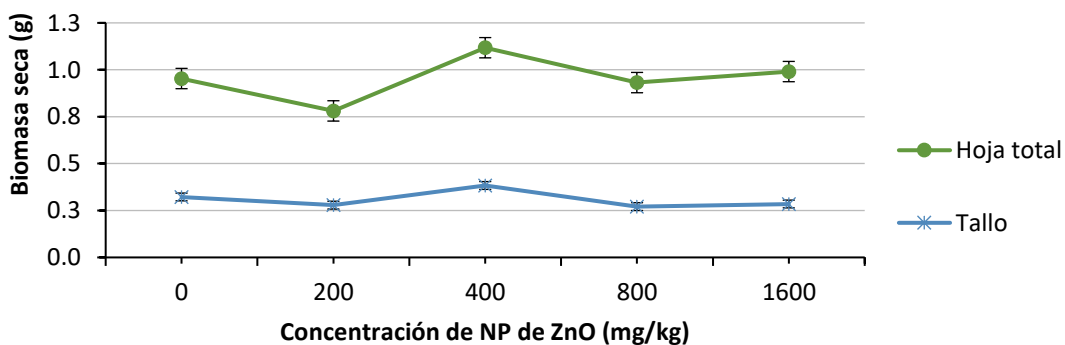


Figura 16. Biomasa seca de maíz blanco cultivado en suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$

Cultivo de maíz en suelo enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

En las Figuras 17 y 18, se muestran los resultados obtenidos de la determinación de biomasa húmeda y seca de maíz blanco cultivado en suelo enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, respectivamente. Los resultados obtenidos se trataron estadísticamente empleando análisis de varianza (ANOVA). El tratamiento de 400 mg/kg de nanopartículas (NP) de ZnO incrementó significativamente ($P=0.05$) la cantidad de biomasa húmeda y seca de raíz, tallo y hoja de la plántula, lo que sugiere que esta concentración puede ser empleado para la cultivo de maíz blanco en suelos concentraciones de Pb de 35-127 mg/kg en las condiciones estudiadas. El incremento de bioamasa seca de maíz a 1600 mg/kg se atribuye a errores aleatorios durante el procedimiento experimental.

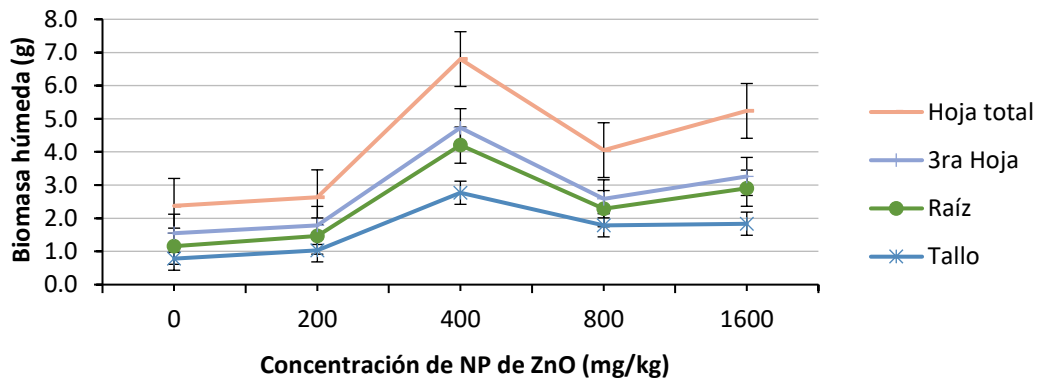


Figura 17. Biomasa húmeda de maíz blanco cultivado en suelo enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

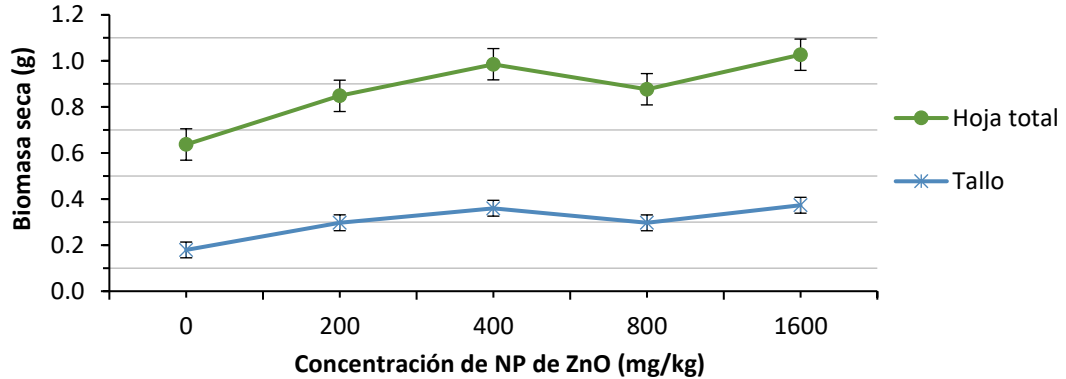


Figura 18. Biomasa seca de maíz blanco cultivado en suelo enriquecido con $Pb(NO_3)_2$

5.2.2.4. Índice de detoxificación

Se determinó el índice de detoxificación del maíz blanco cultivado en suelos enriquecidos y no enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 19. Se observaron índices de detoxificación mayores a 1 en maíz blanco cultivado en suelos enriquecidos empleando todos los tratamientos con nanopartículas de ZnO (200, 400, 800 y 1600 mg/kg), se puede apreciar que el mayor índice de detoxificación obtenido es en el tratamiento con 400 mg/kg de NP de ZnO, observando que su empleo incrementa aproximadamente 3 veces la longitud del tallo tratado con respecto al blanco. El maíz cultivado en suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$ presentó índices de detoxificación menores a 1 en los tratamientos de 200, 800 y 1600 mg/kg, a excepción del índice de detoxificación mayor a 1 obtenido en el tratamiento a 400 mg/kg. Concluyendo al igual que en el estudio de biomasa que el tratamiento de 400 mg/kg de NP de ZnO es adecuada para la cultivación de maíz en suelos que presenten concentraciones de Pb de 35 y 127 mg/kg.

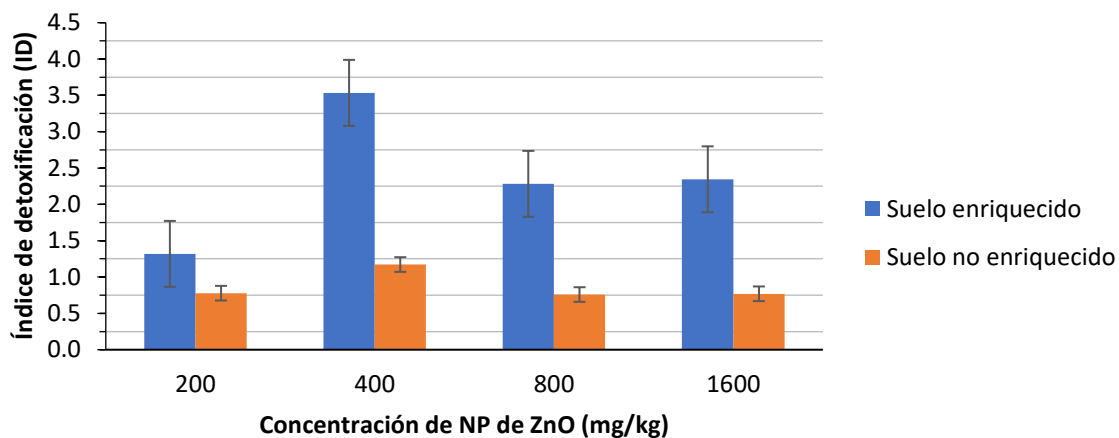


Figura 19. Índice de detoxificación del maíz blanco cultivado en invernadero

5.2.2.5. Determinación de pigmentos fotosintéticos

Se determinó la concentración de los pigmentos fotosintéticos (clorofila (a y b) y carotenoides) del maíz blanco cultivado en suelos enriquecidos y no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 20 y 21, respectivamente. Los datos obtenidos se trataron mediante tratamiento estadístico empleando el método de análisis de varianza (ANOVA). En los resultados obtenidos se observó que los suelos enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ tratados con 200 y 400 mg/kg de nanopartículas (NP) de ZnO incrementaron la concentración de clorofila (a) y carotenoides, principalmente en el tratamiento de 400 mg/kg de NP de ZnO incrementó significativamente ($P=0.05$) la concentración de clorofila (a) en la hoja del maíz. -El maíz cultivado en suelos enriquecidos tratados con concentraciones mayores a 400 mg/kg de NP de ZnO presentó disminución de la concentración de los pigmentos fotosintéticos. Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por **Benett** (1994) [111], **Chen et al.** (2018) [110] y **Rizwan et al.** (2019) [112].

Benett (1994) [111], indicó que plantas cultivadas en suelos con concentraciones >400 mg/kg disminuyen la concentración de pigmentos fotosintéticos presentes en plantas a consecuencia del efecto tóxico del Zn^{2+} . **Chen et al.** (2018) [110] indicaron disminución en la concentración de clorofila (a y b) significativamente ($P < 0.05$) conforme al incremento de las concentraciones de los tratamientos con NP de ZnO (25, 50 y 100 mg/kg) en interacción directa con el cultivo de maíz (cultivo por hidroponía). Sin embargo, en la literatura analizada no se han reportado hasta el momento el efecto de las NP de ZnO en el crecimiento y desarrollo de maíz cultivados en suelos contaminados por Pb. **Rizwan et al.** (2019) [112] reportaron el cultivo de maíz en cultivos agrícolas contaminados por Cd tratados con NP de ZnO, indicaron que los tratamientos con NP de ZnO incrementaron la concentración de clorofila (a y b) con respecto al control, observaron incremento de clorofila conforme al aumento de NP de ZnO en el medio de cultivo. De acuerdo con la literatura consultada y las observaciones obtenidas en este estudio, es posible concluir que las NP de ZnO disminuyen el efecto tóxico del Pb en el desarrollo del cultivo de maíz.

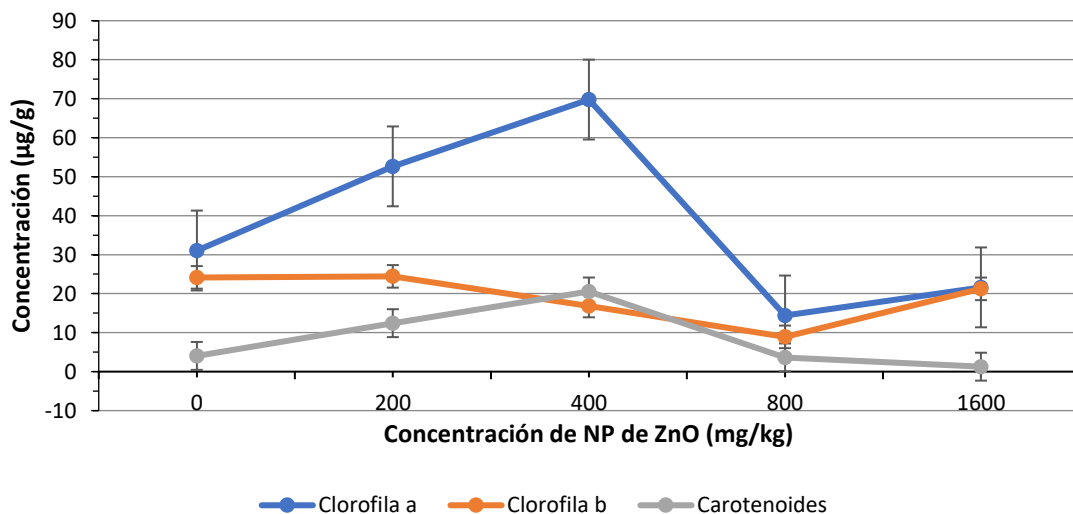


Figura 20. Pigmentos fotosintéticos de maíz cultivado en suelo enriquecido con $Pb(NO_3)_2$

Como se puede apreciar, los resultados obtenidos del cultivo de maíz en suelos no enriquecidos con Pb, indicaron incremento significativo ($P=0.05$) de la concentración de pigmentos fotosintéticos en maíz tratado con 200 mg/kg de NP de ZnO, concentraciones superiores a 200 mg/kg disminuyeron la concentración de los pigmentos fotosintéticos. Estos resultados indican que el Pb presente en el medio de cultivo puede estar actuando como promotor de la síntesis de los pigmentos fotosintéticos posiblemente atribuido por mecanismos de estrés oxidativo propiciado por el metal.

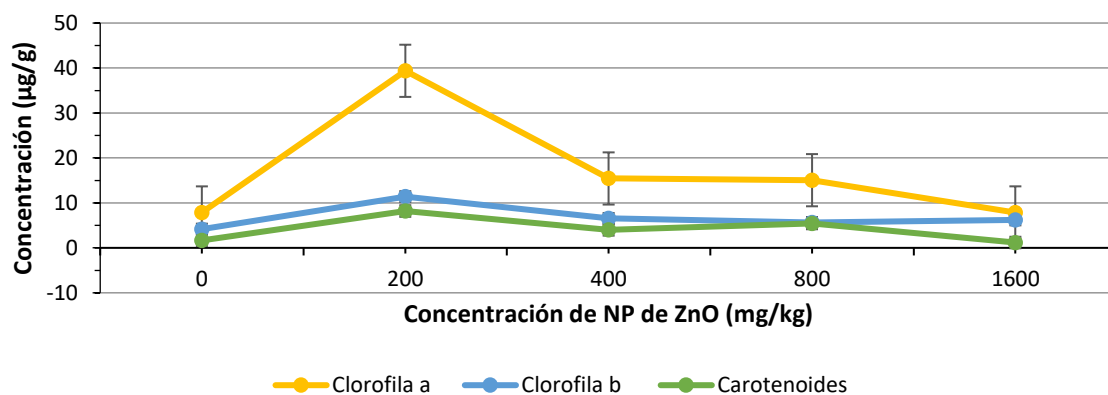


Figura 21. Pigmentos fotosintéticos de maíz cultivado en suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$

5.2.2.6. Actividad de la enzima de catalasa

La función principal de la catalasa (CAT) dentro de las células es prevenir la acumulación de niveles tóxicos de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), generado como un subproducto de los procesos metabólicos de la planta y puede servir como un buen indicador de las respuestas fisiológicas de la planta [113].

Los resultados obtenidos del estudio de CAT en raíces de maíz cultivados en suelo enriquecido y no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$ (127 y 35 mg/kg, respectivamente) tratados con nanopartículas

(NP) de ZnO a 0, 200, 400, 800 y 1600 mg/kg se muestran en la Figura 22. Los resultados obtenidos se analizaron mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $P=0.05$. Se observó diferencia significativa entre los suelos cultivados y entre los tratamientos de NP de ZnO. Como se puede observar en la Figura 22, la elevada presencia de Pb en el medio de cultivo y la utilización del tratamiento de 800 mg/kg de NP de ZnO incrementó significativamente ($P=0.05$) la actividad de la catalasa, indicando que esas condiciones de trabajo favorecen la formación de H_2O_2 mostrando que la disminución del tamaño de longitud de la raíz del maíz es consecuencia del incremento de acumulación/generación de H_2O_2 en el tejido. Estos resultados son similares a los reportados por **Zhao et al.** (2013) [114] y **Mukherjee et al.** (2014) [48] en donde se informó una menor actividad de CAT en plantas de maíz (*Zea mays*) y guisantes verdes (*Pisum sativum L.*) empleando tratamientos con altas concentraciones de NP de ZnO en el medio de cultivo. En los cuales demostraron que la relación entre la actividad de la CAT y las NP de ZnO están relacionadas con el aumento de la liberación de Zn^{2+} conforme al incremento de NP de ZnO en el medio de cultivo; y con **Hernández et al.** (2011) [115] que reportaron incremento de la actividad de CAT en mezquite (*Prosopis juliflora-velutina*) conforme al incremento de la concentración de NP de ZnO empleados.

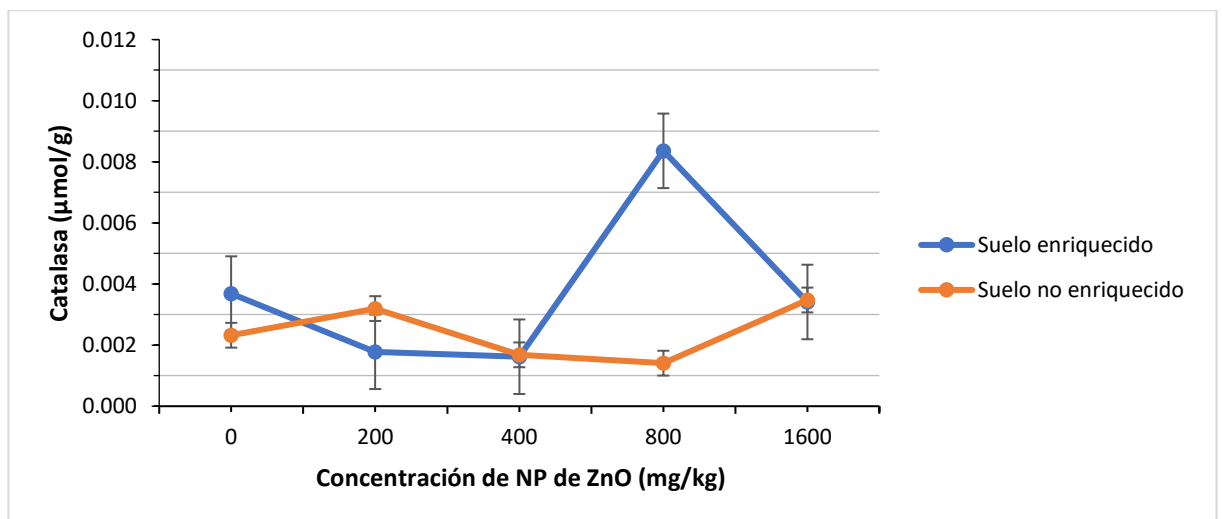


Figura 22. Actividad de la catalasa en raíz de plántulas de maíz

5.3 Bioacumulación y translocación en la planta de maíz

5.3.1. Translocación de Pb y Zn

En este estudio se determinó la concentración de Pb y Zn en las partes de las plántulas de maíz (raíz, tallo y hoja) mediante la utilización del equipo de Espectroscopia de Emisión Óptica con plasma acoplado inductivamente (denominado por sus siglas en inglés, ICP-OES); sin embargo, algunas lecturas presentaron concentraciones menores al límite de detección del Pb (<0.01 ppm) y Zn (<0.01 ppm) por lo que no se muestran los resultados de los factores de translocación en algunos tratamientos. Los resultados obtenidos del factor de translocación de Pb y Zn en tallo y hoja de maíz cultivados en invernadero se muestran en las Figuras 23 y 24, respectivamente.

Las concentraciones de Pb en la parte del tallo de la plántula de maíz obtenidos en suelos no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ presentaron concentraciones menores del límite de detección del equipo de ICP-OES, por lo cual no se pudo realizar la determinación del factor de translocación correspondiente, pero es posible indicar que su acumulación en la parte del tallo es menor de 0.01 ppm con respecto a su acumulación en la parte de la raíz, presentado menor riesgo de acumulación en la parte aérea del maíz (tallo) en todos los tratamientos con NP de ZnO (0, 200, 400, 800 Y 1600 mg/kg). Se observó de igual manera que el blanco (0 mg/kg de NP de ZnO) del suelo no enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ presentó acumulación de Pb menor a 0.01 mg/kg. Todas estas observaciones permiten concluir que el cultivo de maíz en suelo con concentración de 35 mg/kg de Pb no representa un riesgo de toxicidad por translocación de Pb al tallo de la plántula aun sin la presencia de los tratamientos con NP de ZnO.

La concentración de Pb en tallo de maíz cultivado en invernadero en suelo enriquecido con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ fue menor al límite de detección del equipo ICP-OES en los tratamientos de 0, 200, 400 y 1600 mg/kg de NP de ZnO, por lo cual, no se les determinó el factor de translocación. En el tratamiento con 800 mg/kg se observó un riesgo de translocación del Pb a la parte aérea (tallo) de la plántula de maíz; sin embargo, el factor de translocación obtenido es menor a 1 indicando que el tratamiento con NP de ZnO inhibe su translocación.

A diferencia de las determinaciones de las concentraciones de Pb en los tallos por ICP-OES, las concentraciones de Zn fueron mayores al límite de detección del equipo de ICP-OES, estos resultados pueden ser consecuencia que el Pb no tiene funcionalidad en el desarrollo o crecimiento de la plántula a diferencia del Zn que es un nutriente esencial en el crecimiento y desarrollo del cultivo por su participación en los procesos de respiración, síntesis de proteína y del ácido indolacético; y por ser constituyente o activador de enzimas (tales como anhidrasas, isomerasas, deshidrogenasas, aldolasas, carboxilasas y ribonucleasas) [8], por tal motivo, se consideraba mayor concentración de Zn que de Pb en las partes aéreas del cultivo.

Los factores de translocación de Zn en tallo con respecto a la raíz del maíz cultivado en suelos enriquecidos y no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ en invernadero se muestran en la Figura 23. Los factores de translocación de tallo mayores a 1 del Zn en los blancos de los suelos, se atribuye a la forma iónica del Zn^{2+} presente en el medio de cultivo, por la mayor interacción de movilidad hacia las partes aéreas de la plántula. El tratamiento de 800 mg/kg de NP de ZnO en suelos enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (127 mg/kg) permitieron obtener factores de translocación en tallo de Zn menores a 1, lo que puede atribuirse al incremento de Pb en el medio de cultivo. El factor obtenido de la translocación del Zn en tallo en suelo no enriquecido tratado con 200 mg/kg de NP de ZnO fue significativamente mayor ($P=0.05$) a los demás tratamientos empleados (0, 400, 800 y 1600 mg/kg). **Bandyopadhyay et al.** (2015) [116] determinaron los factores de

translocación de Zn en cultivos de alfalfa tras ser expuestos durante 30 días a 0, 250, 500 y 750 mg/kg de NP de ZnO. Indicaron que la captación de Zn en tallo fue mayor significativamente ($P \leq 0.05$) a bajas concentraciones de NP de ZnO en el medio de cultivo (250 y 500 mg/kg, 106% y 166%, respectivamente) a comparación con el control. Tal como se observa en los resultados obtenidos en este estudio.

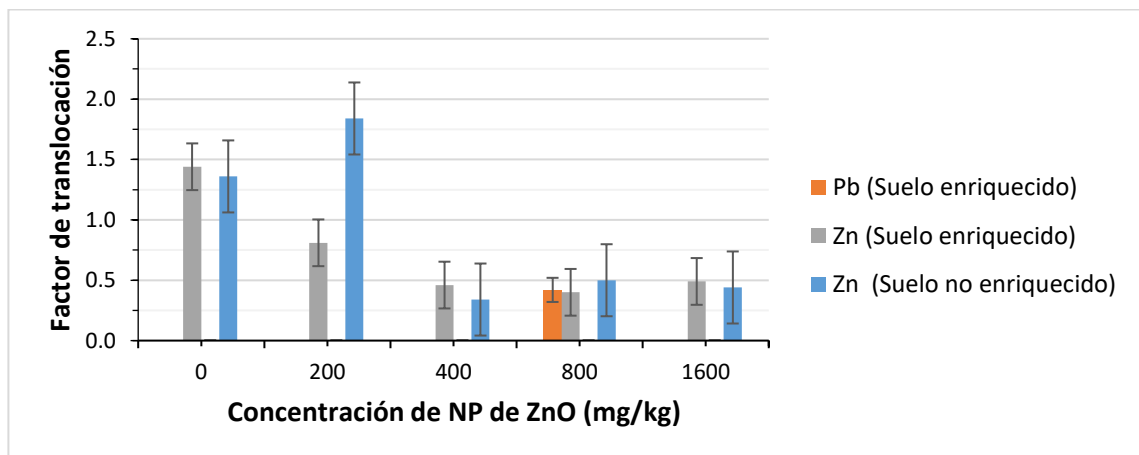


Figura 23. Factor de translocación de Pb y Zn en tallo de maíz

Los factores de translocación obtenidos de la concentración de los metales (Pb y Zn) en la hoja con respecto a la raíz se muestran en la Figura 24. La concentración de Zn en la hoja de maíz cultivado en el blanco (tratamiento con 0 mg/kg de NP de ZnO) del suelo no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$ fue menor al límite de detección del equipo ICP-OES. En el caso del Pb se observó en la hoja de maíz concentraciones menores al límite de detección de ICP-OES en los tratamientos con 0, 200, 400 y 1600 mg/kg de NP de ZnO en suelo enriquecido y no enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$. Por tal motivo, no se calcularon los factores de translocación correspondientes.

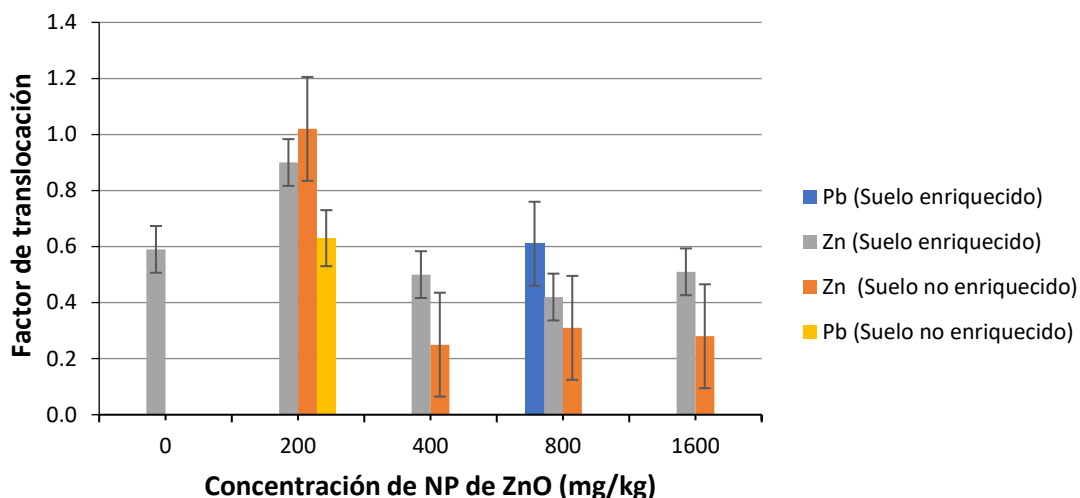


Figura 24. Factor de translocación de Pb y Zn en hoja de maíz

Los factores de translocación obtenidos de la concentración del Pb y Zn de hoja/raíz fueron menores a 1, a excepción del factor de translocación del Zn presente en el tratamiento con 200 mg/kg en suelo no enriquecido; los resultados de ANOVA indicaron que el tratamiento con 200 mg/kg incrementa significativamente su acumulación de Zn en las hojas a diferencia de los demás tratamientos empleados. Esto podría sugerir que el cultivo acumula NP de ZnO y dentro del tejido vegetal lo libere como Zn^{2+} como ha reportado **Dimkpa et al.** (2012) [117].

Los bajos factores de translocación (hoja/raíz) de Zn (<1) a altas concentraciones de NP empleadas pueden ser explicado por la posible formación de complejos de Zn^{2+} con ácidos orgánicos y posible captación de Zn en las vacuolas de la raíz y por tal motivo, esté en menor disponibilidad para el transporte de xilema tal como reportan **Straczek et al.** (2008) [118], **Jian y Wang** (2008) [119].

En la literatura analizada no se han reportado la interacción de las NP de ZnO y Pb en cultivos de maíz. Sin embargo, en este estudio se observó que las NP de ZnO inhiben la acumulación de Pb

en tallo y raíz del cultivo de maíz que puede ser atribuido a los efectos antagónicos de estos metales entre sí como reportaron **Rizwan et al.** (2019) [112] que reportaron disminución significativa (0.05) de la concentración de Cd presente en raíz y tallo conforme al incremento de la concentración de NP de ZnO empleado (0, 50, 75, 100 mg/kg) en el medio de cultivo. Debido a la cantidad adecuada de Zn en suelo o planta que puede interferir con el Cd y reducir su acumulación debido a los efectos antagónicos de estos metales entre sí [120].

5.3.2. Translocación de nutrientes en cultivos de maíz

Se determinaron los factores de translocación de K, Mg, P, S, Ca, Mn y Fe, debido a que son nutrientes esenciales en el desarrollo y crecimiento del maíz. Los factores de translocación de los macronutrientes y micronutrientes con respecto a la relación tallo/raíz se muestran en las Figuras 25 y 26, respectivamente; y los factores de translocación de la relación de hoja/raíz de los macronutrientes y micronutrientes se muestran en las Figuras 25 y 26, respectivamente.

El K, Mg y P presentaron factores de translocación mayores a 1 en relación tallo/raíz en todos los tratamientos con NP de ZnO tanto en suelo enriquecido y no enriquecido con $Pb(NO_3)_2$, a excepción del Mg en suelo enriquecido tratado con 200 mg/kg de NP de ZnO. Se observó disminución significativa ($P=0.05$) de los factores de translocación (tallo/raíz) del Mg con respecto al blanco en suelos enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$ tratados con NP de ZnO (200 a 1600 mg/kg) e incremento significativo en suelos no enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$ con los tratamientos de 200 y 1600 mg/kg de NP de ZnO sugiriendo que el tratamiento con NP de ZnO (200 y 1600 mg/kg) en suelo con concentración de 35 mg/kg de Pb favorece a los mecanismos de absorción del Mg en el cultivo y su translocación a las partes aéreas. **Peralta et al.** (2018) [68] reportaron que los tratamientos con NP de ZnO en soja redujeron significativamente ($P\leq 0.05$) la acumulación de Mg en raíz con respecto a su control); dichos resultados no concuerdan con lo

obtenido en el estudio ya que en suelos enriquecidos se observó acumulación de Mg principalmente en raíz, pero en suelos no enriquecidos se observa el comportamiento reportado por **Peralta et al.** (2018) [68]. Se ha reportado que la acumulación de NP de ZnO en la superficie de la raíz, impide la absorción del Mg por los canales iónicos selectivos de transporte [121]. Considerando lo reportado en la literatura, se concluye que el incremento de la concentración de Pb en el medio de cultivo inhibe la acumulación de las NP de ZnO en la raíz, por consecuencia, se incrementó la acumulación de Mg en la planta.

El S y Ca no presentaron factores de translocación (tallo/raíz) mayores a 1, no se observó un incremento significativo ($P=0.05$) con respecto a los blancos en ninguno de los tratamientos empleados con NP de ZnO tanto en suelos enriquecidos como no enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$, lo cual nos permite concluir que los tratamientos con NP de ZnO en suelos con Pb (35 y 127 mg/kg) no afectan la absorción y acumulación de Ca y S en el cultivo de maíz (calidad nutrimental de S y Ca en el cultivo). Dicho efecto de las NP de ZnO en la acumulación de S y Ca es similar al reportado por **Zhao et al.** (2015) [114].

Se observó disminución significativa ($P=0.05$) del factor de translocación (hoja/raíz) del K en suelos enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$ en presencia de los tratamientos de las NP de ZnO (200 a 1600 mg/kg) y en suelos no enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$ tratado con 200, 400 y 1600 mg/kg de NP de ZnO con respecto al blanco indicando que la utilización de estos tratamientos con NP de ZnO inhiben la translocación de K a los brotes de la plántula.

Los resultados indicaron que la translocación de P en la hoja de maíz no presentó diferencias significativas en suelos enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$ en ninguno de los tratamientos con NP de ZnO (200 a 1600 mg/kg); sin embargo, se incrementó significativamente en suelo no enriquecido

tratado con 200 mg/kg de NP de ZnO. Indicando que la absorción y translocación del P en el cultivo de maíz en suelos con 35 mg/kg es favorecida a bajas concentraciones de NP de ZnO.

Los resultados indicaron que el factor de translocación del Fe de la relación tallo y hoja con respecto a la raíz de los cultivos de maíz sembrados en suelos enriquecidos y no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ en invernadero fueron menores a 1, no presentó diferencias significativas ($P=0.05$) en ninguno de los casos, lo que indicó que los tratamientos con NP de ZnO y la presencia de Pb (35 y 127 mg/kg) no afecta a la acumulación de Fe ni su transportación a las partes aéreas de la plántula de maíz.

A diferencia de las observaciones del Fe, el Mn presentó variación en el factor de translocación tanto en tallo y hoja, incrementó significativo ($P=0.05$) en suelos enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ con los tratamientos de 200 y 1600 mg/kg de NP de ZnO; y en suelos no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ empleando los tratamientos de 400 y 1600 mg/kg de NP de ZnO, lo cual indicó que estas concentraciones de NP de ZnO permiten incrementar la translocación de Mn en las partes aéreas de la plántula de maíz sin presentar riesgo de translocación a los brotes del cultivo debido a que sus factores de translocación eran menores a 1 en todos los casos, tal como se muestran en las Figuras 27 y 28.

Los resultados obtenidos en este estudio no corresponden a lo reportado por **Peralta et al.** (2018) [68]. Debido, a que **Peralta et al.** (2018) [68] indicaron que los tratamientos con NP de ZnO (50, 100 y 500 mg/kg) en soya reducen significativamente ($P\leq 0.01$) con la acumulación de Fe en las hojas a consecuencia del exceso de Zn^{2+} en el tejido que se enlaza a las proteínas desplazando a otros iones, como el Fe^{2+} , pero se observa acumulación principalmente en raíces del cultivo. Sin embargo, en el estudio realizado se observó que los tratamientos de NP de ZnO no afectan la acumulación de Fe en los cultivos de maíz. Además, **Peralta et al.** (2018) [68]

reportaron que las concentraciones de Mn en raíz de soya se incrementaron con el tratamiento intermedio de NP de ZnO (100 mg/kg), este comportamiento puede atribuirse a la necesidad de Mn por la planta, de igual forma se observa en los resultados que la acumulación de Mn es incrementada por concentraciones bajas de NP de ZnO.

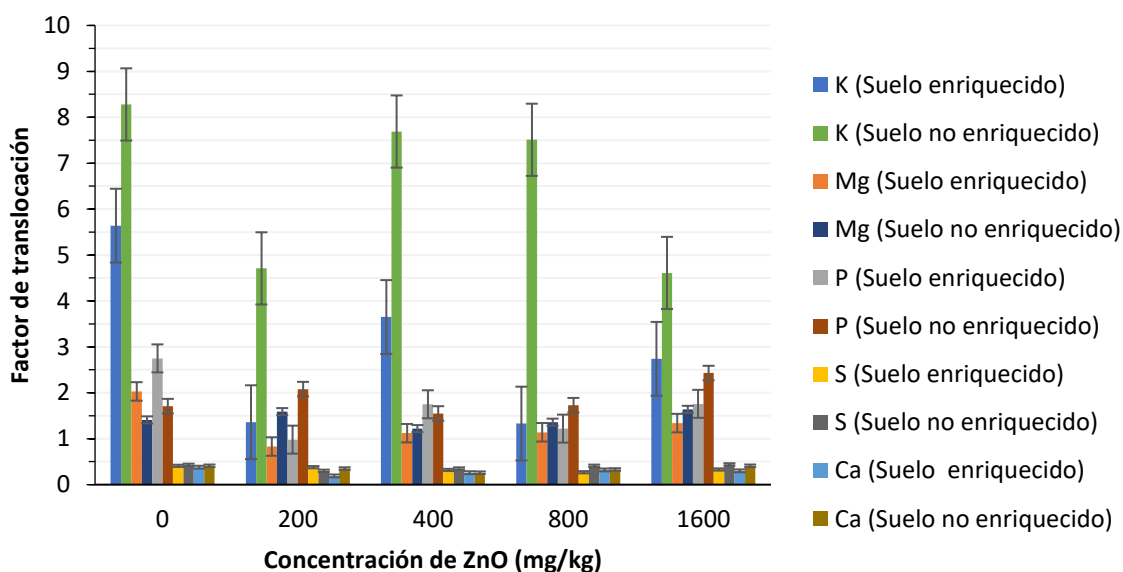


Figura 25. Factor de translocación de macronutrientes en tallo de maíz

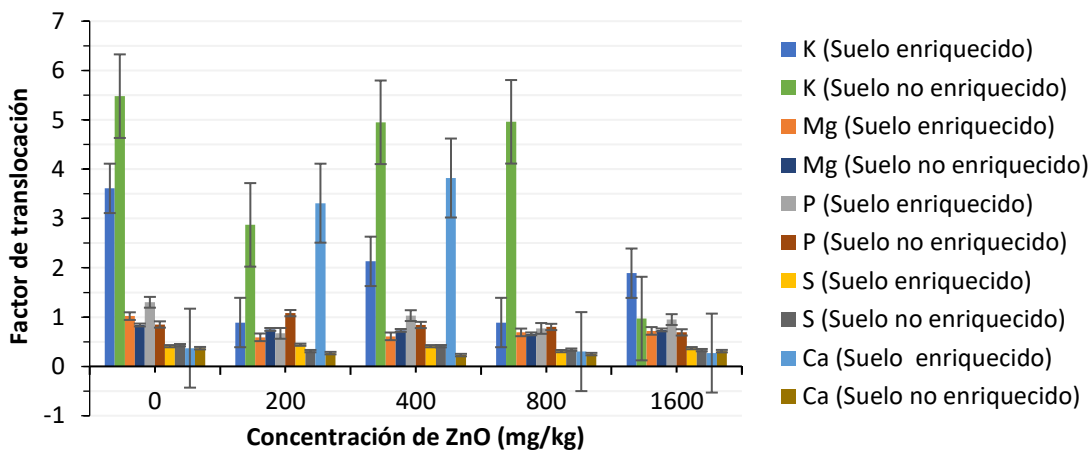


Figura 26. Factor de translocación de macronutrientes en hoja de maíz

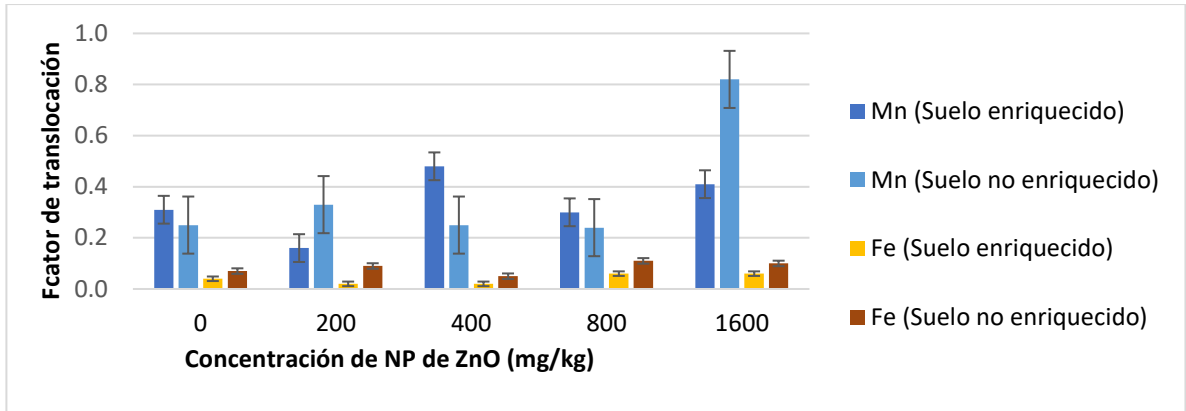


Figura 27. Factor de translocación de micronutrientes en tallo de maíz

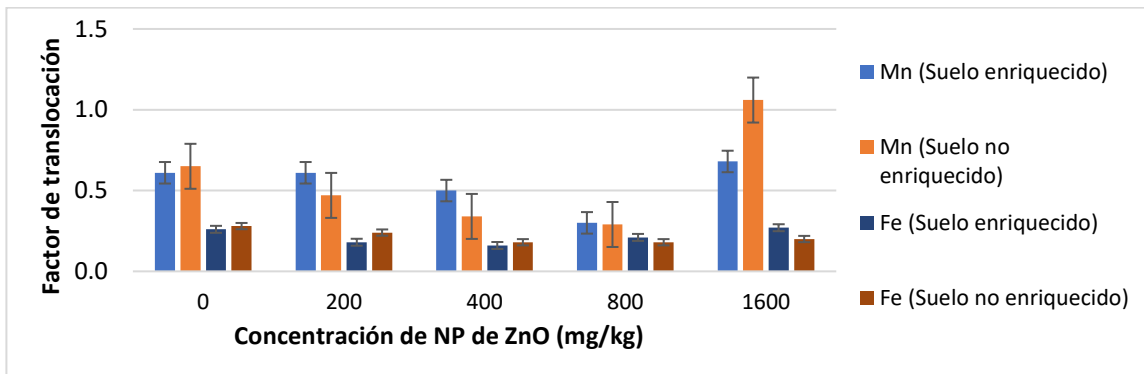


Figura 28. Factor de translocación de micronutrientes en hoja de maíz

5.3.3. Factor de bioacumulación de Pb y Zn

En este estudio solo se reportó la bioacumulación de Pb y Zn, a consecuencia de que solo se realizó la determinación de ambos metales en cada suelo obtenido de los tratamientos empleados en ambos tipos de suelo a nivel invernadero; por tal motivo, solo se muestran los factores de bioacumulación de Pb y Zn en el Figura 29. Los resultados obtenidos se trataron mediante análisis de varianza (ANOVA) y la prueba *t* de Student indicaron que el factor de bioacumulación de Zn no presentó diferencias significativas ($P=0.05$) con respecto a los blancos

bajo ningún tratamiento empleado de NP de ZnO (200 a 1600 mg/kg). Sin embargo, se observó en el caso del Pb un incremento significativo ($P=0.05$) en suelo enriquecido con $Pb(NO_3)_2$ en los tratamientos de 400 y 800 mg/kg de NP de ZnO con respecto al blanco; y disminución significativa ($P=0.05$) en el tratamiento de 1600 mg/kg bajo las mismas condiciones de crecimiento. Se observó disminución significativa ($P=0.05$) de Pb empleando los tratamientos con NP de ZnO en suelos enriquecidos con $Pb(NO_3)_2$. Estos resultados indican que la planta de maíz absorbe principalmente en la raíz Pb que Zn. Además, se puede apreciar que los tratamientos con NP de ZnO inhiben principalmente la absorción de Pb en raíz del maíz cultivado en suelos con concentración de Pb de 35 mg/kg que en los suelos con Pb de 127 mg/kg que en dicho caso se observó su disminución de absorción principalmente en el tratamiento con 1600 mg/kg, esto puede ser causado por efecto de la presencia de las NP en el medio del crecimiento.

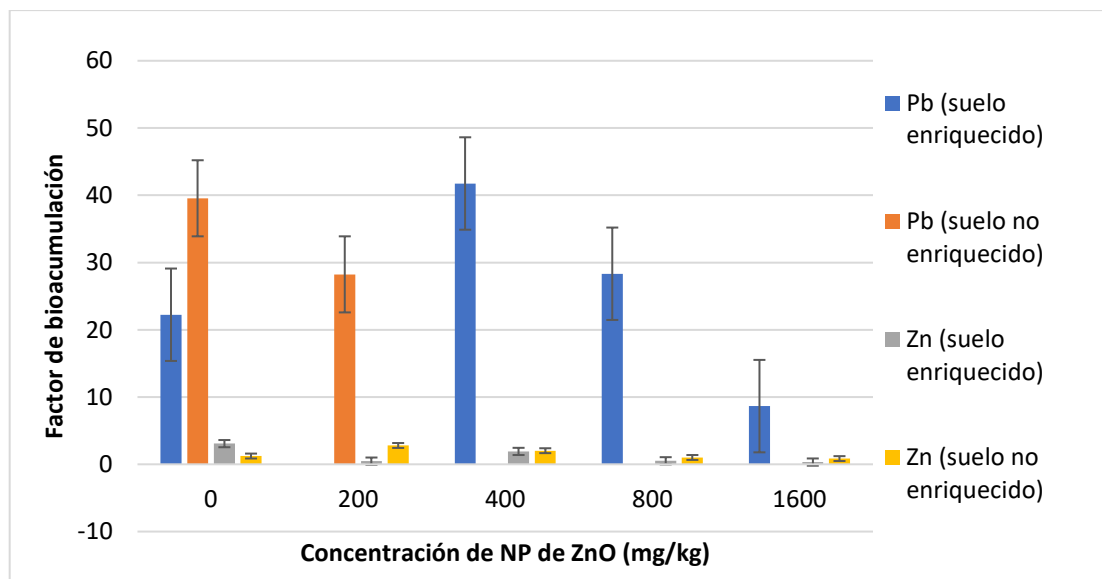


Figura 29. Factor de bioacumulación de Pb y Zn

5.4 Tratamiento estadístico

Los datos obtenidos de los experimentos realizados en este proyecto se usaron para realizar el análisis de componente principal (ACP). Se elaboraron dos ACP, el primero se obtuvo empleando los datos obtenidos de los análisis de concentración total de Pb y Zn en los suelos enriquecidos y no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; concentración de Pb, Zn, K, Mg, Ca, P, S, Fe y Mn en la raíz del maíz; y sus respectivos factores de translocación de la relación tallo/raíz; y el factor de bioacumulación de Pb en los suelos enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; los resultados se muestran en la Tabla 18, se elaboró este ACP con el objetivo de comprender el efecto del Zn en la inhibición de la acumulación de nutrientes (macro y micro nutrientes) y de Pb en el cultivo de maíz. El segundo ACP se elaboró con la finalidad de comprender el efecto de las nanopartículas de ZnO en la acumulación de los nutrientes y plomo, y su efecto en el medio de cultivación, se obtuvo a partir de los datos obtenidos de concentración total de Pb y Zn en los suelos enriquecidos y no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; pH, concentración de Pb, Zn, K, Mg, Ca, P, S, Fe y Mn en la raíz del maíz; y el factor de bioacumulación de Zn, en los suelos enriquecidos y no enriquecidos con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; los resultados se muestran en la Tabla 19. Los resultados obtenidos sugieren que el incremento de pH en el suelo empleado y el incremento en la acumulación de Zn en la raíz dependen del incremento de la concentración de las NP de ZnO. Estos resultados no corresponden a lo reportado por **Waalewijn-Kool et al.** (2013) [122], que indicaron que el aumento del pH en suelos disminuye la concentración de Zn soluble liberado de las NP de ZnO, los resultados del estudio realizado corresponden con lo reportado por **Baddar y Unrine** (2018) [123] indicaron que los tratamientos con concentraciones elevadas de NP de ZnO en cultivos incrementan la acumulación de Zn en las plántulas.

Se observó que la acumulación de Zn en la raíz disminuye la concentración de Mn, P y Fe; e incremento de concentración de K en la raíz del cultivo en ambos medios de cultivo. Estos resultados concuerdan con lo reportado por **Amezcuca et al.** (2017) [124] que indicaron que la absorción y acumulación de Zn en exceso resulta tóxica para las plantas porque ocasiona un desbalance metabólico generalizado en las células a consecuencia que el exceso de Zn es capaz de reemplazar o inhibir la función de otros elementos esenciales como el Fe y Mg disminuyendo su concentración en el cultivo; y disminuye la concentración de Mn y P en las raíces, por la competición e interferencia del Zn en la absorción de estos en la raíz. Además, se observó que la concentración de Pb disminuye conforme se incrementa el factor de bioacumulación de Zn en el cultivo de maíz.

Tabla 18. Matriz de componentes principales de bioacumulación de Pb en cultivo

	CP1	CP2	CP3	CP4
Mg _{Raíz(SE)}	-.957	-	-	-
FTMg _{Tallo(SE)}	.942	-	-	-
FTCa _{Tallo(SE)}	.927	-	-	-
Ca _{Raíz(SE)}	-.872	-	-	-
FTP _{Tallo(SE)}	.809	-	-	-
FTZn _{Tallo(SE)}	.711	-	-	-
FTK _{Tallo(SE)}	.689	-	-	-
Mn _{Raíz(SE)}	-	.982	-	-
Zn _(SE)	-	-.964	-	-
Pb _(SE)	-	-.949	-	-
Zn _{Raíz(SE)}	-	-.837	-	-
FTFe _{Tallo(SE)}	-	-.783	-	-
Fe _{Raíz (SE)}	-.556	.740	-	-

FTPb _{Tallo(SE)}	-	-	-.987	-
FBAPb _(SE)	-	-	-.987	-
FTS _{Tallo(SE)}	-	-	.799	-
S _{Raíz (SE)}	-	-	-.729	-
FTMn _{Tallo(SE)}	-	-	-	.995
K _{Raíz (SE)}	-	-	-	-.812
P _{Raíz (SE)}	-	.611	-	-.710

*FBAPb: Factor de bioacumulación de Pb

*FT: Factor de translocación

*SE: Suelo enriquecido con Pb(NO₃)₂

Método de rotación Varimax, *CP: Componente Principal

Tabla 19. Matriz de componentes principales de bioacumulación de Zn en cultivo

	CP1	CP2	CP3	CP4
Zn _{Raíz(SE)}	.990	-	-	-
Zn _(SE)	.987	-	-	-
Zn _(SNE)	.974	-	-	-
Zn _{Raíz (SNE)}	.961	-	-	-
Mn _{Raíz(SE)}	-.920	-	-	-
pH _(SNE)	.866	-	-	-
Pb _(SE)	.862	-	-	-
pH _(SE)	.671	-	-	-
Fe _{Raíz (SNE)}	-.632	-.630	-	-
Pb _{Raíz (SE)}	-	-.938	-	-
FBAZn _(SNE)	-	.911	-	-
FBAZn _(SE)	-	.899	-	-
Mg _{Raíz (SNE)}	-	-.857	-	-
K _{Raíz (SE)}	-	.826	-	-
P _{Raíz (SE)}	-.628	.713	-	-
K _{Raíz (SNE)}	-.658	.690	-	-
Pb _{Raíz (SNE)}	-	-	.924	-
P _{Raíz (SNE)}	-	-	.890	-
S _{Raíz (SE)}	-	-	.884	-
S _{Raíz (SNE)}	-	-	.874	-
Mn _{Raíz (SNE)}	-.586	-	.746	-
Ca _{Raíz (SNE)}	-.606	-	.728	-
Ca _{Raíz (SE)}	-	-	-	.959
Mg _{Raíz (SE)}	-	-	-	.861
Fe _{Raíz (SE)}	-.516	-	-	.837
Varianza (%)	42.140	28.931	20.078	8.851

*FBAZn: Factor de bioacumulación de Zn

*SE: Suelo enriquecido con Pb(NO₃)₂

*SNE: Suelo no enriquecido con Pb(NO₃)₂

Método de rotación Varimax

*CP: Componente Principal

CONCLUSIONES

En la etapa de germinación (7 días), la aplicación de los tratamientos de NP de ZnO de 100 a 3200 mg/kg reduce la tasa de germinación de las plántulas de maíz (*Zea mays*) amarillo y los tratamientos con ZnCl₂ sugieren que es atribuido a la alta concentración de Zn²⁺.

En la etapa de desarrollo (7 días), el maíz blanco en el suelo no enriquecido con Pb (35 mg/kg) incrementó su altura de 19-29% con el tratamiento de NP de ZnO de 100 a 1600 mg/kg, por otro lado, el maíz amarillo presentó un decremento en su desarrollo con los tratamientos de NP de ZnO en suelo enriquecido con Pb y no enriquecido.

Las concentraciones en suelo de Zn²⁺ de 3200 mg/kg afectan negativamente en el desarrollo de maíz blanco y superiores a 200 mg/kg el crecimiento de maíz amarillo.

En la etapa de prefloración (60 días), las plantas de maíz blanco presentaron mejor desarrollo en el suelo enriquecido con Pb (127 mg/kg) con la adición de NP de ZnO 200-1600 mg/kg, principalmente a 400 mg/kg.

Los tratamientos de 200 a 400 mg/kg de NP de ZnO en suelos no enriquecidos y enriquecidos con Pb, respectivamente incrementaron la concentración de pigmentos fotosintéticos en la plántula de maíz.

Los tratamientos de NP de ZnO (200 a 1600 mg/kg) no incrementaron significativamente ($P=0.05$) la concentración de H₂O₂ en las raíces de los cultivos de maíz bajo las condiciones estudiadas (suelo enriquecido y no enriquecido).

Los tratamientos con NP de ZnO (200 a 1600 mg/kg) no afectaron significativamente la calidad nutrimental de Fe, S y Ca en los cultivos de maíz bajo las condiciones estudiadas. Inhiben la acumulación de Mg y P en la raíz conforme al incremento de la concentración de NP empleada.

El tratamiento con NP de ZnO a 800 mg/kg incrementan la acumulación de Pb en el cultivo (raíz, tallo y hoja) de maíz, lo cual su implementación representa un riesgo de ingreso en la cadena trófica. Los demás tratamientos con NP de ZnO bajo las condiciones estudiadas no incrementan la acumulación de Pb en la plántula de maíz.

El tratamiento con 400 mg/kg de NP de ZnO permite el incremento de biomasa y longitud de las partes de las plántulas de maíz (raíz, tallo y hoja) no afecta la acumulación de nutrientes (Ca, S, Fe, Mn, Mg y Zn) e incrementa la acumulación de Pb en las raíces con respecto a lo acumulado a la parte aérea, indicando que es un tratamiento adecuado en suelos enriquecidos con Pb (127 mg/kg) que causa la inhibición de acumulación y translocación de Pb en las partes aéreas de la plántula de maíz y que no afecta significativamente su calidad nutricional, por lo cual se concluye que la hipótesis de este estudio se cumplió.

El tratamiento con NP de ZnO a 400 mg/kg permite la obtención de maíz en etapa de prefloración (nivel invernadero) con elevada altura y alta concentración de biomasa por consecuencia de su inhibición del estrés con Pb en la actividad de catalasa y formación de clorofila (a) bajo las condiciones estudiadas.

El tratamiento con NP de ZnO a 400 mg/kg permite la obtención de cultivo de maíz con concentración de Pb menor a 0.01 mg/kg en las partes aéreas e incrementa su acumulación en raíz por la inmovilización de Pb en suelo; por lo cual, este tratamiento es adecuado para la disminución de riesgo de ingesta de Pb en cultivo de maíz y uso de enmienda en suelo enriquecido con Pb.

Como bien se observó los resultados obtenidos de la evaluación de las NP de ZnO en las dos diferentes variedades de maíz implementadas (blanco y amarillo) difieren en la germinación y desarrollo de la plántula, por tal motivo, se sugiere realizar un estudio más afondo del efecto de las NP de ZnO en las diferentes variedades de maíz cultivadas en México bajo las condiciones empleadas en este proyecto.

REFERENCIAS

1. Liu Q, Deng Y, Tang J, Chen D, Li X, Lin Q, Yin g, Zhan M, Hu H: **Potassium lignosulfonate as a washing agent for remediating lead and copper co-contaminates soils.** *Science of The Total Environment* 2019, **658**(1):836-842.
2. Huang D, Zeng G, Jiang X, Feng C, Yu H, Huang G, Liu H: **Bioremediation of Pb-contaminated soil by incubating with Phanerochaete chrysosporium and straw.** *Journal of Hazardous Materials* 2006, **134**(1-3):268-276.
3. Morcillo P, Esteban MA, Cuesta A: **Heavy metals produce toxicity, oxidative stress and apoptosis in the marine teleost fish SAF-1 cell line.** *Chemosphere* 2016, **144**(1):225-233.
4. Chen H, Teng Y, Lu S, Wang Y, Wang J: **Contamination features and health risk of soil heavy metals in China.** *Science of The Total Environment* 2015, **512-513**(1):143-153.
5. Li P, Lin H, Chen X, Duan K: **Contamination and health of soil heavy metals around a lead/zinc smelter in southwestern China.** *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2015, **113**(1):391-399.
6. Li X, Peng W, Jian Y, Lu L, Fan W: **Bioremediation of lead contaminated soil with *Rhodobacter sphaeroides*.** *Chemosphere* 2016, **156**(1):228-235.
7. Zeng F, Ali S, Zhang H, Ouyang Y, Qiu B, Wu F: **The influence of pH and organic matter content in paddy soil on heavy metal availability and their uptake by rice plants.** *Environmental Pollution* 2011, **159**(1):84-91.

8. Hans E, Kumar S, Rani R: **A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies.** *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2018, **147**(1):1035-1045.
9. **Environmental Protection Agency of U.S.; consultado: 13 de agosto de 2018, disponible en:** [<https://ag.umass.edu/soil-plant-nutrient-testing-laboratory/fact-sheets/soil-lead-testing-interpretation-r>].
10. **Acumulación de As-Cd-Pb en suelos y cultivos afectados por jales mineros; consultado el 13 de agosto de 2018, disponible en:** [http://www.ameqa.org/AMEQA/V_congreso_memorias/EXTENSOS/EXT%20QA01.pdf]
11. PEREZ M: **Concentración de Pb, Cd, Ni y Zn en suelos contaminados y su transferencia a la pella de brócoli.** *Tierra Lationamericana* 2008, **26**(3):215-225.
12. Bautista A, Arnaud M, Carrillo R: **Trace Elements Concentration in Two Agricultural Areas.** *Tierra Latinoamericana* 2011, **29**(2):123-131.
13. **Pérez S, García A, Castro E, Duarte V: Contenido de plomo total e intercambiable en suelo agrícola regado con aguas residuales y su acumulación en alfalfa; consultado: 22 de septiembre de 2018, disponible en:** <http://www.amica.com.mx/issn/archivos/182.pdf>.
14. Mohammad H, Sultana S, Gomes R, Noor S: **Heavy metal pollution of soil and vegetable grown near roadside at Gazipur.** *Journal of Agricultural Research* 2012, **37**(1):9-17.
15. **Organización Mundial de la salud (OMS); consultado el 16 de enero de 2019, disponible en:** <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/summary73.pdf>
16. Nust ET, Tanumihardjo SA: **Maize: A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition.** *Comprehensive Reviews in Food Science and Foos Safety* 2010, **9**(4):417-436.

17. **FOASTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations; consultado: 13 de febrero de 2019, disponible en:**
[<http://faostat.fao.org/site/613/DesktopDefault.aspx?PageID=613#ancor>].
18. Kapusta P, Sobczyk L: **Effects of heavy metal pollution from mining and smelting on enchytraeid communities under different land management and soil conditions.** *Science of Total Environmental* 2015, **536**(1):517-526.
19. Elouear Z, Bouhamed F, Boujelben N, Bouzid J: **Application of sheep manure and potassium fertilizer to contaminated soil and its effect on zinc, cadmium and lead accumulation by alfalfa plants.** *Sustainable Environmental Research* 2016, **26**(3):131-135.
20. Schreck E, Foucaulta Y, Sarret G, Sobanska S, Cécillon L, Castrec M, Uzu G, Dumat C: **Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: mechanisms involved for lead.** *Science of the Total Environment* 2012, **427-428**(1):253-262.
21. Ye X, Li H, Zhang L, Chai R: **Amendment damages the function of continuous flooding in decreasing Cd and Pb uptake by rice in acid paddy soil.** *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2018, **147**(1):20-27.
22. Liu L, Li W, Song W, Guo M: **Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability.** *Science of Total Environment* 2018, **633**(1):206-219.
23. Khalid S, Shahid M, Khan N, Murtaza B: **A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils.** *Journal of Geochemical Exploration* 2017, **182**(2):247-268.

24. Zhai X, Li Z, Huang B: **Remediation of multiple heavy metal-contaminated soil through the combination of soil washing and situ immobilization.** *Science of The Total Environment* 2018, **635**(1):92-99.
25. Zhu Y, Xu F, Liu Q, Chen M: **Nanomaterials and plants: Positive effects, toxicity and the remediation of metal and metalloid pollution in soil.** *Science of The Total Environment* 2019, **62**(1):414-421.
26. O'Connor D, Huo D, Ye J, Zhang Y, Tian L: **Lead-based paint remains a major public health concern: A critical review of global production, trade, use, exposure, health risk, and implications.** *Environmental International* 2018, **121**(1):85-101.
27. Hisan S, Huda N, Mahmud P: **Life cycle analysis of copper-gold-lead-silver-zinc beneficiation process.** *Science of The Total Environment* 2019, **659**(1):41-52.
28. Williams P, Bellavia A, Korrick S, Burns J: **Blood lead levels and timing of male sexual maturity: A longitudinal study of Russian boys.** *Environment International* 2019, **125**(1):470-477.
29. Chhipa H: **Applications of nanotechnology in agriculture.** *Methods in Microbiology* 2019, **135**(1):225-235.
30. Lee W, Kwak J, An Y: **Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: Media effect on phytotoxicity.** *Chemosphere* 2012, **86**(1):491-499.
31. Mirzajani F, Askari H, Hamzelou S, Farzaneh M, Ghassempour A: **Effect of silver nanoparticles on *Oryza sativa* L. and its rhizosphere bacteria.** *Ecotoxicology Environmental* 2013, **88**(1):48-54.
32. Larue C, Laurette J, Herlin-Boime N: **Accumulation, translocation and impact of TiO₂ nanoparticles in wheat (*Triticum aestivum* spp.): Influence of diameter and crystal phase.** *Science of The Total Environment* 212, **431**(1):197-208.

33. Pokhrel I, Dubbey B: **Evaluation of developmental responses of two crop plants exposed to silver and zinc oxide nanoparticles.** *Science of The Total Environment* 2013, **452–453(1):321–332.**
34. Song U, Jun H, Waldman B: **Functional analyses of nanoparticle toxicity: A comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*).** *Ecotoxicology Environment* 2013, **93(1):60–67.**
35. Faisal M, Saquib Q, Alatar A, Al-Khedhairi A: **Phytotoxic hazards of NiO-nanoparticles in tomato: A study on mechanism of cell death Mater.** *Ecotoxicology Environment* 2013, **318-332(1):250–251.**
36. Kumari A, Khan, Pakrashi S, Mukherjee A: **Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*.** *Mater* 2011, **190(1):613–621.**
37. Zhao L, Hernandez-Viezcas J, Peralta-Videa JR: **ZnO nanoparticle fate in soil and zinc bioaccumulation in corn plants (*Zea mays*) influenced by alginate.** *Science of The Total Environment* 2013, **15(1):260–266.**
38. Morales A, Rico M, Hernandez-Viezcas C, Nunez JA: **Toxicity assessment of cerium oxide nanoparticles in cilantro (*Coriandrum sativum* L.) plants grown in organic soil.** *Journal Agriculture of Food Chemistry* 2013, **61(1):6224–6230.**
39. Feng Y, Cui X, Dong G: **The role of metal nanoparticles in influencing arbuscular mycorrhizal fungi effects on plant growth.** *Environment Science Technology* 2013, **47(1):9496–9504.**
40. **International Agency for Research on Cancer; consultado el 14 de enero de 2019, disponible en:** [<https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol93/mono93-7.pdf>]

41. Paulraj M, Igacimuthu S: **Comparative studies of tripolyphosphate and glutaraldehyde cross-linked chitosan-botanical pesticide nanoparticles and their agricultural applications.** *International Journal of Biological Macromolecules* 2017, **104**(2):1813-1819.
42. Kundu M, Krishnan P: **Recent developments in biosensors to combat agricultural challenges and their future prospects.** *Trends in Food Science & Technology* 2019, **88**(1):157-178.
43. Keller A., McFerran S, Lazareva A, Suh S: **Global life cycle releases of engineered nanomaterials.** *Journal of Nanoparticle Research* 2013, **15**(6):1692-1698.
44. Xu J, Luo X, Wang Y, Feng Y: **Evaluation of zinc oxide nanoparticles on lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth and soil bacterial community.** *Environmental Science Pollution Research* 2018, **25**(6):6026-6035.
45. Siani, N, Fallah S, Pokhrel L: **Natural amelioration of Zinc oxide nanoparticle toxicity in fenugreek (*Trigonella foenum-gracum*) by arbuscular mycorrhizal (*Glomus intraradices*) secretion of glomalin.** *Plant Physiol. Biochemical* 2017, **112**(1):227-238.
46. Priester J, Moritz S, Espinosa K: **Damage assessment for soybean 472 cultivated in soil with either CeO₂ or ZnO manufactured nanomaterials.** *Science of The Total Environment* 2017, **579**(1):1756-1768.
47. Dimkpa C, Hansen T, Stewart J, McLean J: **ZnO nanoparticles and root colonization by a beneficial pseudomonad influence essential metal responses in bean (*Phaseolus vulgaris*).** *Nanotoxicology* 2015, **9**(3):271-278.
48. Mukherjee A, Peralta-Videa J, Bandyopadhyay S, Rico C, Zhao L, Gardea-Torresdey J: **Physiological effects of nanoparticulate ZnO in green peas (*Pisum sativum* L.) cultivated in soil.** *Metallomics* 2014, **6**(1):132-138.

49. Yoon S, Kwak J, Lee W, Holden P: **Zinc oxide nanoparticles delay soybean development: A standard soil microcosm study.** *Ecotoxicology Environment Safety* 2014, **100**(1):131-137.
50. Wang F, Liu X, Shi Z, Tong R, Adams C, Shi X: **Arbuscular mycorrhizae alleviate negative effects of zinc oxide nanoparticle and zinc accumulation in maize plants—a soil microcosm experiment.** *Chemosphere* 2016, **147**(1):88-97.
51. Liu X, Wang F, Shi Z, Tong R, Shi X: **Bioavailability of Zn in ZnO nanoparticle spiked soil and the implications to maize plants.** *Journal Nanoparticles Research* 2015, **17**(4):1-11.
52. Zhao L, Peralta-Videa J, Rico C, Gardea, J: **CeO₂ and ZnO nanoparticles change the nutritional qualities of cucumber (*Cucumis sativus*).** *Journal Agriculture of Food Chemistry* 2014, **62**(13):2752-2759.
53. Jiang X, Tong M, Kim H: **Influence of natural organic matter on the transport and deposition of zinc oxide nanoparticles in saturated porous media.** *Journal of Colloid and Interface Science.* 2012, **386**(1):34-43.
54. Kanel, S, Al-Abed S: **Influence of pH on the transport of nanoscale zinc oxide in saturated porous media.** *Journal of Nanoparticle Research* **13**(9):4035-4047.
55. Li L, Schuster M: **Influence of phosphate and solution pH on the mobility of ZnO nanoparticles in saturated sand.** *Science of The Total Environment* 2014, **472**: 971-978.
56. Han Y, Kim D, Hwang G, Lee B, Eom, I: **Aggregation and dissolution of ZnO nanoparticles synthesized by different methods: Influence of ionic strength and humic acid.** *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2014, **451**:7-15.
57. Beckett HT, Davis RD: **Upper critical levels of toxic elements in plants.** *New Phytologist* 1992, **79**(1):95-106.

58. Zhao L, Peralta J, Peng B, Gardea J: **Alginate modifies the physiological impact of CeO₂ nanoparticles in corn seedlings cultivated in soil.** *Journal of Environmental Sciences* 2014, **26**: 382-389.
59. Sun P, Shijirbaatar A, Fang J: **Distinguishable transport behavior of zinc oxide nanoparticles in silica sand and soil columns.** *Science of The Total Environment* 2015, **505**:189-198.
60. Venkata L, Pullagurala R, Ishaq O, Rawat S: **Finding the conditions for the beneficial use of ZnO nanoparticles towards plants-A review.** *Environmental Pollution* 2018, **1**:1-25.
61. Mengel K. y Kirkby E. A. 1987. Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute. Bern, Switzerland.
62. Salisbury F. B. y Ross C. W. 1994. Fisiologia vegetal. Grupo editorial Iberoamericano S. A. de C.V. México.
63. Arnon DI, Stout PR: **The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper.** *Plant Physiology* 1939, **14**(1):371-375.
64. Rabafka FP, Schulz R, Marschner H: **Erhebungsuntersuchungen zur Pflanzenverfügbarkeit von Nickel auf Böden mit hohen goegeenen nickelgehalten.** *Angewandte Botanik* **64**:317-328.
65. Dimkpa CO, White JC, Elmer H, Gardea-Torresdey J: **Nanoparticle and Ionic Zn Promote Nutrient Loading of Sorghum Grain under Low NPK Fertilization.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2017, **65**(39):8552-8559.
66. Zhao L, Sun Y, Hernandez-Viezcas JA, Hong J, Majumdar S, Niu G, Duarte-Gardea M, Peralta-Videa JR, Gardea-Torresdey JL: **Monitoring the Environmental Effects of CeO₂ and ZnO Nanoparticles Through the life Cycle of Corn (Zea mays) Plants and situ μ -XRF**

- Mapping of nutrients in Kernels.** *Environmental Science & Technology* 2015, **49**(5):2921-2928.
67. Zhao L, Peralta JR, Rico CM: **CeO₂ and ZnO nanoparticles Change the Nutritional Qualities of Cucumber (*Cucumis satuvis*).** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2014, **62**(13):2752-2759.
68. Peralta J, Hernandez P, Zhao L, Corral B, Ge Y, Priester J, Hokden P, Torresdey J: **Cerium dioxide and zinc oxide nanoparticles alter the nutritional value of soil cultivated soybean plants.** *Plant Physiology and Biochemistry* 2014, **80**(1):128-135.
69. Walton H., Reyes J., (Ed.) (1983). *Análisis Químico e instrumental moderno*. Barcelona, España: EDITORIAL REVERTÉ, S. A.
70. Harris D., (3 Ed.) (2003). *Análisis químico*. Barcelona, España: EDITORIAL REVERTÉ S. A.
71. Connors K., (1 Ed.) (1981). *Curso de análisis farmacéutico (ensayo del medicamento)*. Barcelona, España: EDITORIAL REVERTÉ, S. A.
72. Skoog D., Holler F., Nieman T., (5 Ed.) (2001). *Principios de análisis instrumentales*. Madrid, España: Edigrafos, S. A.
73. Gary C., (6 Ed.) (2009). *Química analítica*. D. F., México: MCGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S. A. de C. V.
74. Álvarez S, Aznar M, Guerra M, Escanero J., (1 Ed.) (2013). *Contribución actual de los elementos traza y minerales en medicina y su papel clínico*. PRENSAS DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA.
75. Hernández L., González C., (1 Ed.) (2002). *Introducción al análisis instrumental*. Barcelona, España: Editorial Ariel, S. A.
76. Sierra A., Pérez D., (1 Ed.) (2010). *Análisis instrumental*. Barcelona, España: NETBIBLO, S. L.

77. Korn M, Andrade J, Djane S, Lemos V: **Separation and preconcentration procedures for the determination of lead using spectrometric techniques: A review.** *Talanta* 2006, **69**(1):16-24.
78. Korn M, Andrade J, Djane S, Lemos V: **Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels – A review.** *Talanta* 2007, **73**(1):1-11.
79. Hasegawa T, Umemoto M, Haraguchi H, Hsieh C, Monster A: **Fundamental properties of inductively coupled plasmas.** *Inductively coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry* 1992, **2**(1):373-449.
80. Calderon V, Doug A, Doug S: **Analysis of environmental samples by ICP-OES following US EPA guidelines.** *Spectroscopy -Springfield then Eugene Then Duluth* 2007, **1**(1):17-18.
81. Broekaert J, Boumans P: **Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy, Part 1.** *Methodology, Instrumentation, and Performance* 1984, **1**(1):1-18.
82. Hill S: **Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications.** *Inductively coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry* 2006, **2**(1):23-37.
83. Kroukamp E, Wondimu T, Forbes P: **Metal and metalloid speciation in plants: Overview, instrumentation, approaches and commonly assessed elements.** *Trends in Analytical Chemistry* 2016, **77**(1):87-99.
84. Trevizan L, Nubrega J: **Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry with Axially Viewed Configuration: an Overview of Applications.** *Sociedad Brasileña de Química* 2007, **18**(4): 678-690.
85. Ghosh S, Prasanna L, Sowjanya B, Srivani P, Alagaraja M, Banji D: **Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy: A Review.** *Asian Journal of Pharmaceutical Analysis* 2013, **13**(1):24-33.

86. Browner R, Boorn A: **Sample Introduction: The Achilles' Heel of Atomic Spectroscopy?**. *Analytical Chemistry* 1984, **56**(7):1-17.
87. Mermet J, Poussel E: **ICP Emission Spectrometers: 1995 Analytical Figures of Merit**. *Applied Spectroscopy* 1995, **49**(10):12-18.
88. Zander A, Chien R, Cooper C, Wilson P: **An image-mapped detector for simultaneous ICP-AES**. *Analytical Chemistry* 1999, **71**(16):10-27.
89. **NMX-AA-132-scfi-2016, Muestreo de suelos para la identificación y cuantificación de metales y metaloides, y manejo de la muestra; consultado: 13 de agosto de 2018, disponible en:** [<http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2010/nmx-aa-132-scfi-2016.pdf>]
90. **Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI); consultado 3 de abril de 2019, disponible en:** [<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/nl/poblacion/>]
91. **Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI); consultado 3 de abril de 2019, disponible en:** [http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/19/19041.pdf]
92. **Secretaría del medio ambiente y recursos humanos (SEMARNAT); consultado: 3 de abril de 2019, disponible en:** [<http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/DO2280n.pdf>]
93. **NOM-021-SEMARNAT-2006: Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis.** In Edited by Federación México.
94. **FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations; consultado: 13 de mayo, 2019, disponible en: []**

95. Lin D, Xing B: **Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles.** *Environmental Science & Technology* 2008, **45**(15):5580-5585.
96. Migliore L, Cozzolino S, Fiori M: **Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants.** *Chemosphere* 2013, **52**(1):1233-1244.
97. García-Gómez C, Obrador A, González D, Babín M, Fernández MD: **Comparative study of the phytotoxicity of ZnO nanoparticles and Zn accumulation in nine crops grown in a calcareous soil and an acidic soil.** *Science of The Total Environment* 2018, **644**(1):770-780.
98. Singh A, Hussain NB, Singh H: **Effect of biologically synthesized copper oxide nanoparticles on metabolism and antioxidant activity to the crop plants Solanum lycopersicum and Brassica oleracea var. botrytis.** *Journal of Biotechnology* 2017, **262**(1):11-27.
99. Hernández-Viezcás JA, Castillo-Michel AD, Peralta-Videa JR: **Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutina* (velvet mesquite) treated with ZnO nanoparticles.** *Chemical Engineering Journal* 2011, **170**(2-3):346-352.
100. Panfili I, Bartucca M, Buono D: **The treatment of duckweed with a plant biostimulant or a safener improves the plant capacity to clean water polluted by terbuthylazine.** *Science of The Total Environment* 2019, **646**(1):832-840.
101. Clement O, Mahboob A, Nnaemeka T, Viswanathan K: **Effects of manufactured nano-copper on copper uptake, bioaccumulation and enzyme activities in cowpea grown on soil substrate.** *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2018, **155**(1):86-93.
102. **Effect of inorganic amendments for in situ stabilization of cadmium in contaminated soils and its phyto-availability to wheat and rice under rotation.** *Environmental Science and Pollution Research* 2015, **22**(21): 16897-16906.

103. Ventaka L, Adisa O, Hernández-Viescaz J: **ZnO nanoparticle increase photosynthetic pigments and decrease lipid peroxidation in soil grown cilantro.** *Plant Physiology and Biochemistry* 2018, **132**(1):120-127.
104. Chuaxin M, White JC, Parkash O, Xing B: **Metal-Based Nanotoxicity and Detoxification Pathways in Higher Plants.** *Environmental Science Technology* 2015, **49**(12):7109-7122.
105. **FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations; consultado 13 de mayo, 2019, disponible en:** [<http://www.fao.org/3/a-a0541s.pdf>]
106. Wang P, Menziest N, Lombi E., McKenna B, Johannessens B, Glover C, Keppens P, Kopittke P: **Fate of ZnO Nanoparticles in Soils and Cowpea (*Vigna unguiculata*).** *Environmental Science & Technology* 2013, **47**(23):13822-13830.
107. Zhang R, Zhang H. Tu C, Hu X, Li L, Luo Y: **Phytotoxicity of ZnO nanoparticles and the released Zn(II) ion to corn (*Zea mays L.*) and cucumber (*Cucumis sativus L.*) during germination.** *Environmental Science and Pollution Research* 2015, **22**(14):11109-11117.
108. Venkata L, Ventaka T, Prasad K, Giridhara T: **Novel effects of Nanoparticulate Delivery of Zinc on Growth, Productivity, and Zinc Biofortification in Maize (*Zea mays L.*).** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2016, **64**(19):3778-3788.
109. Watson JL, Fang T., Dimkpa CO, Britt DW, McLean JE, Jacobson A, Anderson AJ: **The phytotoxicity of ZnO nanoparticles on weath varies with soil properties.** *Biometals* 2015, **28**(1):101-112.
110. Dimkpa CO: **Soil properties influence the response of terrestrial plants to metallic nanoparticles exposure.** *Current Opinion in Environmental Science & Health* 2018, **6**(1):1-8.

111. Chen J, Dou R, Yang Z, You T, Gao X, Wang L: **Phytotoxicity and bioaccumulation of zinc oxide nanoparticles in rice (*Oryza sativa* L.)**. *Plant Physiology and Biochemistry* 2018, **130**(1):604-612.
112. Bennet WF (1994) **Nutrient Deficiencies and Toxicities in Crop Plants**. The American Phytopathological Society. St. Paul, MN, pp: 202.
113. Rizwan M, Ali S, Rehman M, Adrees M: **Alleviation of cadmium accumulation in maize (*Zea mays* L.) by foliar spray of zinc oxide nanoparticles and biochar to contaminated soil**. *Environmental Pollution* 2019, **248**(1):358-367.
114. Panda SK, Choudhury S: **Chromium stress in plants**. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 2005, **17**(1):95-102.
115. Zhao L, Hernández J, Peralta J, Bandyopadhyay S, Peng B, Munoz B, Keller A, Gardea J: **ZnO nanoparticle fate in soil and zinc bioaccumulation in corn plants (*Zea mays*) influenced by alginate**. *Environmental Science: Processes & Impacts* 2013, **15**(1):260-266.
116. Hernández JA, Michel H, Servin AD, Peralta JR, Torresdey JL: **Spectroscopic verification of zinc absorption and distribution in the desert plant *Prosopis juliflora-velutina* (velvet mesquite) grown with ZnO nanoparticles**. *Chemical Engineering Journal* 2011, **170**(1-3):346-352.
117. Bandyopadhyay S, Plascencia G, Mukherjee A, Rico C, Yacamán M, Peralta-Videa J, Gardea-Torresdey J: **Comparative phytotoxicity of ZnO NPs, bulk ZnO, and ionic zinc onto the alfalfa plants symbiotically associated with *Sinorhizobium meliloti* in soil**. *Science of The Total Environment* 2015, **515-516**(1):60-69.
118. Dimkpa CO, McLean JE, Britt DW, Anderson AJ: **Bioactivity and biomodification of Ag, ZnO, and CuO nanoparticles with relevance to plant performance in agriculture**. *Industrial Biotechnology* 2012, **8**(6):344-357.

119. Jian X, Wang C: **Zinc distribution and zinc-binding forms in *Phragmites australis* under zinc pollution.** *Journal of Plant Physiology* 2008, **165**(7):679-704.
120. Straczek A, Sarret G, Manceau A, Hinsinger P, Geoffroy N, Jaillard B: **Zinc distribution and speciation in roots of various genotypes of tobacco exposed to Zn.** *Environmental and Experimental Botany* 2008, **63**(1-3):80-90.
121. Huang G, Ding C, Zhou Z, Zhang T, Wang X: **A tillering application of zinc fertilizer based on basal stabilization reduces Cd accumulation in rice (*Oryza sativa* L.).** *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2019, **167**(15):338-344.
122. Maathuis JM: **Physiological functions of mineral macronutrients.** *Current Opinion in Plant Biology* 2009, **12**(3):250-258.
123. Waalewijn-Kool PL, Diez-Ortiz M, Straalen NM, Gestel C: **Sorption, dissolution and pH determine the long-term equilibration and toxicity of coated and uncoated ZnO nanoparticles in soil.** *Environmental Pollution* 2013, **178**(1):59-63.
124. Baddar ZE, Unrine JM: **Functionalized-ZnO-Nanoparticle Seed Treatments to Enhance Growth and Zn Content of Wheat (*Triticum aestivum*) Seedlings.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2018, **66**(46):12166-12178.
125. Amezcua-Romero J, Lara-Flores M: **El zinc en las plantas.** *Ciencia* 2017, **68**(3):28-35.