



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**“EFECTOS DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE ZnO (NP-ZnO)
SOBRE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*Eisenia foetida*) COMO
ORGANISMO DE PRUEBA”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA:

MERCEDES MAYO ZURITA

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DR. RANDY HOWARD ADAMS SCHROEDER

EN COODIRECCIÓN DE:

DRA. SHEILA ARIANY URIBE LÓPEZ

VILLAHERMOSA, TABASCO, SEPTIEMBRE 2024



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
**Felipe Carrillo
PUERTO**
GOBIERNO DEL ESTADO DE TABASCO
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN Y CULTURA
MEXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 22 de Enero de 2024

ASUNTO: Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
PRESENTE**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a la **C. Mercedes Mayo Zurita** egresada de la Lic. en **ING. AMBIENTAL** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: **"EFECTOS DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE ZnO (NPs-ZnO) SOBRE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*Eisenia foetida*) COMO ORGANISMO DE PRUEBA"**

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica
C.c.p.- Interesado



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
PRESIDENTE DEL GOBIERNO
CONSTITUCIONAL DE YUCATAN
1911-1913
GOBIERNO DE
MÉXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

ENERO 22 DE 2024

**C. MERCEDES MAYO ZURITA
PAS. DE LA LIC. EN ING. AMBIENTAL
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"EFECTOS DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE ZnO (NPs-ZnO) SOBRE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*Eisenia foetida*) COMO ORGANISMO DE PRUEBA"**, asesorado por el Dr. Randy Howard Adams Schroeder y Dra. Sheila Ariany Uribe López, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Dr. Gabriel Núñez Nogueira, Dra. Rocío Guerrero Zárata, Dr. Randy Howard Adams Schroeder, Dra. Melina del Carmen Uribe López y Dra. Verónica Isidra Domínguez Rodríguez.

**A T E N T A M E N T E
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

**U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
**Felipe Carrillo
PUERTO**
ESTADISTA, REVOLUCIONARIO,
DEFENSOR DE LA LIBERTAD
Y LA JUSTICIA
MÉXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

29 de febrero de 2024

C. Mercedes Mayo Zurita
Pasante de la Lic. en Ingeniería Ambiental
PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (Tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la **revisión en la plataforma iThenticate** de su documento de Tesis "EFECTOS DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE ZnO (NP-ZnO) SOBRE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*Eisenia foetida*) COMO ORGANISMO DE PRUEBA".

OBSERVACIONES:

Se incluyeron citas, se excluyeron referencias bibliográficas, fuentes pequeñas y se limitó el número de coincidencias a 13 palabras.

| | |
|-------------------------------|--|
| RESULTADO DE SIMILITUD | 2 % |
| | 17,313 palabras. 17 coincidencias, 15 fuentes |

Finalmente, se le solicita al **C. Mercedes Mayo Zurita** integrar en la versión final del trabajo recepcional (Tesis), este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p. Dr. Randy Howard Adams Schroeder. Director del trabajo recepcional (Tesis)
C.c.p. Archivo

EFFECTOS DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE ZnO (NP-ZnO) SOBRE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (Eisenia foetida) COMO ORGANISMO DE PRUEBA

INFORME DE ORIGINALIDAD

2%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|---|--|--------------------|
| 1 | rua.ua.es Internet | 36 palabras — < 1% |
| 2 | www.medigraphic.com Internet | 33 palabras — < 1% |
| 3 | issuu.com Internet | 29 palabras — < 1% |
| 4 | www6.rel-uita.org Internet | 25 palabras — < 1% |
| 5 | bibliotecadigital.exactas.uba.ar Internet | 17 palabras — < 1% |
| 6 | repositorio.unicach.mx Internet | 17 palabras — < 1% |
| 7 | web.ujat.mx Internet | 17 palabras — < 1% |
| 8 | www.ujat.mx Internet | 16 palabras — < 1% |
| 9 | doi.org Internet | 15 palabras — < 1% |

| | | |
|----|--|--------------------|
| 10 | hdl.handle.net Internet | 14 palabras — < 1% |
| 11 | repositorio.uchile.cl Internet | 14 palabras — < 1% |
| 12 | revistas.umariana.edu.co Internet | 14 palabras — < 1% |
| 13 | www.scielo.org.co Internet | 14 palabras — < 1% |
| 14 | ciencialatina.org Internet | 13 palabras — < 1% |
| 15 | eprints.uanl.mx Internet | 13 palabras — < 1% |

EXCLUIR CITAS

DESACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

< 10 PALABRAS

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS

< 13 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **"EFECTOS DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE ZnO (NPs-ZnO) SOBRE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*Eisenia foetida*) COMO ORGANISMO DE PRUEBA"**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 22 de Enero de Dos Mil Veinticuatro.

AUTORIZO



MERCEDES MAYO ZURITA

AGRADECIMIENTOS

A Dios por acompañarme en todo el proceso y darme capacidad, sabiduría, persistencia, paciencia y fuerza a lo largo de este proceso y por poner en mi camino a todas las personas que me ayudaron a tener este logro.

A mis padres por darme la bendición de estudiar una carrera universitaria, por su constante dedicación y esfuerzo a lo largo de todos estos años, gracias por su apoyo y confianza en cada una de mis decisiones y su amor incondicional.

A la Dra. Vero y el Dr. Randy por los consejos, la confianza hacia mi persona y recibirme en su laboratorio. Muchas gracias por el apoyo, tiempo, dedicación, paciencia y comprensión en todo el proceso, los estimo mucho.

A la Dra. Melina y la Dra. Sheila por su confianza y ánimos para poder realizar esta investigación, por el tiempo dedicado en cada paso, por su paciencia y por todos los aprendizajes que me transmitieron, muchas gracias.

A la maestra Liliana por cada una de sus enseñanzas que me ayudaron mucho en la elaboración de este proyecto, gracias por su enorme paciencia y por brindarme su amistad que hizo más ameno la estancia en el laboratorio.

A mi novio Alexandro por apoyarme siempre, gracias por tu paciencia infinita, sin duda compartir esta experiencia contigo ha sido una de las mejores.

A mis mejores amigos Yesenia y Daniel por su valiosa amistad a lo largo de estos diez años, por esos ánimos constantes, por escucharme siempre y ser mi mejor terapia durante este proceso, los amo.

Al comité de sinodales por su eficiencia y dedicación en las revisiones, gracias por resolver mis dudas para la mejora de este trabajo.

Al Laboratorio de Remediación de suelos de la “División Académica de Ciencias Biológicas”, al Laboratorio de nanotecnología de la “División Académica de ingeniería y arquitectura” y al Laboratorio Nacional de Nano y Biomateriales (LANNBIO) del CINVESTAV-Unidad Mérida por el apoyo y disposición para realizar los análisis para el desarrollo de este proyecto, muchas gracias.

DEDICATORIAS

A Dios por darme un logro más y por todas las bendiciones que recibí a lo largo de mi vida.

A mis padres, por estar presente siempre en mis buenos y malos momentos, por aconsejarme, amarme y formarme con buenos valores para ser la mujer que soy, hoy puedo decir que todos sus sacrificios y esfuerzos valieron la pena, este logro no solo es mío si no de ustedes, los amo muchísimo.

A mi novio Alexandro por estar en cada paso, por su amor incondicional, por decidir caminar de la mano conmigo y al mismo tiempo crecer juntos sin rendirnos a pesar de las pruebas que Dios pone en nuestro camino, este es un logro de muchos juntos, te amo mucho.

A mis dos corazoncitos chiquititos Hachi y Beni que me acompañaron en los momentos que me quedaba sola haciendo tarea y mi tesis. Desde que llegaron a mi vida me han enseñado el amor más puro e incondicional que el ser humano pueda experimentar, su existencia hace que mi vida se más hermosa, divertida y feliz. Le doy gracias a Dios por mandar a mi vida este par de ángeles traviosos, los amo infinitamente.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 1 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 2 |
| 2. JUSTIFICACIÓN | 5 |
| 3. ANTECEDENTES | 6 |
| 4. MARCO TEÓRICO | 10 |
| 4.1 La importancia de los Nanomateriales | 10 |
| 4.1.1 Clasificación de las nanopartículas (NP) | 10 |
| 4.1.2 ¿Qué son las Nanopartículas de óxido Zinc (NP-ZnO)? | 11 |
| 4.1.3 Clasificación e importancia de la macrofauna del suelo | 12 |
| 4.2 Generalidades de las lombrices de tierra (Annelida:oligochaeta) | 14 |
| 4.3 Categorías ecológicas de las lombrices e importancia | 15 |
| 4.4 Lombriz roja californiana (<i>Eisenia foetida</i>) | 15 |
| 4.5 Generalidades del suelo | 17 |
| 4.6 Propiedades fisicoquímicas del suelo | 17 |
| 4.7 Prueba de toxicidad: Dosis-respuesta | 19 |
| 4.8 Como afecta la acumulación y exposición de las NP a los organismos del suelo | 20 |
| 4.8.1 A las propiedades del suelo | 20 |
| 4.8.2 A las lombrices de tierra | 21 |
| 4.9 Técnicas de caracterización de las nanopartículas (NP) | 21 |
| 4.9.1 Difracción de rayos X (DRX) | 21 |
| 4.9.2 Microscopia electrónica de barrido (FE-SEM) | 22 |
| 5. OBJETIVOS | 24 |

| | |
|---|----|
| General | 24 |
| Específicos..... | 24 |
| 6. METODOLOGÍA..... | 25 |
| 6.1 Caracterización de nanopartículas de óxido de zinc (NP-ZnO)..... | 26 |
| 6.2 Obtención de organismos | 26 |
| 6.3 Análisis de calidad de suelo | 27 |
| 6.3.1 pH..... | 27 |
| 6.3.2 Capacidad de intercambio catiónico (CIC) | 28 |
| 6.3.3 Densidad real (DR) | 28 |
| 6.3.4 Densidad aparente (DA) | 29 |
| 6.3.5 Conductividad eléctrica (CE) | 29 |
| 6.3.6 Materia orgánica (MO)..... | 29 |
| 6.4 Bioensayo | 30 |
| 6.4.1 Etapa 1: Preparación de las lombrices | 31 |
| 6.4.2 Etapa 2: Bioensayo..... | 31 |
| 6.4.3 Etapa 3: Observación de las lombrices a las 24 y 48 horas | 32 |
| 6.5 Análisis estadísticos | 32 |
| 7. RESULTADOS | 33 |
| 7.1 Difracción de rayos X | 33 |
| 7.2 Microscopía electrónica de barrido | 34 |
| 7.3 Análisis físicos y químicos del suelo | 35 |
| 7.4 Peso de las lombrices | 36 |
| 7.5 Mortalidad | 37 |
| 8. DISCUSIÓN..... | 39 |

EFFECTOS DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE ZnO (NP-ZnO) SOBRE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*Eisenia foetida*) COMO ORGANISMO DE PRUEBA

| | | |
|-----|------------------------------------|----|
| 8.1 | Caracterización de las NP-ZnO..... | 39 |
| 8.2 | Caracterización del suelo..... | 40 |
| 8.3 | Bioensayo..... | 42 |
| 9. | CONCLUSIONES..... | 44 |
| 10. | RECOMENDACIONES..... | 45 |
| 11. | LITERATURA CITADA..... | 46 |

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología a seguir para la evaluación del efecto de las NP-ZnO en la lombriz roja californiana (<i>Eisenia foetida</i>). | 25 |
| Figura 2. Organismo de prueba empleado en el bioensayo: Lombriz roja californiana (<i>Eisenia foetida</i>). | 27 |
| Figura 3. Esquema del diseño experimental donde se representa las concentraciones (C0, C1, C2, C3, C4 y C5) y las réplicas empleadas en el bioensayo. | 30 |
| Figura 4. Defecación de las lombrices durante tres horas. | 31 |
| Figura 5. Peso inicial de las lombrices. | 31 |
| Figura 6. Fase inicial del bioensayo para su posterior observación a las 48 horas. | 31 |
| Figura 7. Observación de las lombrices posterior a las 24 horas. | 32 |
| Figura 8. Peso final de las lombrices. | 32 |
| Figura 9. Difractograma de las nanopartículas de óxido de zinc. | 33 |
| Figura 10. Micrografías FE-SEM que muestran nanopartículas ZnO en forma de barras hexagonales. | 34 |
| Figura 11. Porcentaje de incremento de peso de las lombrices, normalizado al testigo. | 37 |
| Figura 12. Mortalidad de las lombrices: a) Organismo con efecto de fragmentación a las 24 h, b) Organismos con efecto de fragmentación muerto a las 48 h, c) Organismos con clitelo inflamado a las 24 h, d) Organismos con clitelo destrozado a las 48 h. | 37 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas de las nanopartículas de ZnO..... | 34 |
| Cuadro 2. Promedio de las concentraciones de los análisis físicos y químicos del suelo sin dopaje (C0) y después del dopaje con las NP-ZnO (C1, C2, C3, C4 y C5). | 35 |
| Cuadro 3. Promedio del peso inicial y peso final de las lombrices por concentración de las NP-ZnO..... | 36 |

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1. Certificado de análisis de las nanopartículas de ZnO obtenido por Sigma-Aldrich. | 61 |
| Anexo 2. Hoja de seguridad de las nanopartículas de ZnO adquirido por el fabricante..... | 62 |

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

RESUMEN

Se evaluaron los efectos de las nanopartículas de óxido de zinc (NP-ZnO) en la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) como organismo de prueba, a través de un bioensayo de toxicidad aguda utilizando el método de contacto directo en un suelo tipo arenoso. La caracterización de las propiedades estructurales y el tamaño de las NP-ZnO, se llevó a cabo con la difracción de rayos X (DRX) y la morfología se determinó con la microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), estas demostraron una estructura cristalina del tipo wurtzita hexagonal con tamaños de cristalito alrededor de 43 nm, área superficial entre los 10-25 m² g⁻¹ y barras hexagonales con longitudes de 37 nm – 190 nm y diámetros 23 - 94 nm altamente aglomeradas, respectivamente. Para el bioensayo de toxicidad aguda con las NP-ZnO, se evaluaron seis concentraciones 0, 250, 500, 1,000, 1,500 y 2,000 mg kg⁻¹ (C0, C1, C2, C3, C4 y C5) correspondientes a la LC50 para análisis de supervivencia, donde además se analizaron los parámetros de peso, expulsión de líquido celómico, movimiento, respuesta al estímulo y pigmentación. En las concentraciones por debajo de los 1,000 mg kg⁻¹ (LC50) no se observaron efectos en las lombrices, mientras que arriba de 1,000 mg kg⁻¹ se observó mortalidad e incremento de peso, respectivamente. Las propiedades físico-químicas del suelo se analizaron antes y después de contaminarlo con las NP-ZnO a través de la determinación del pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, densidad real y densidad aparente; donde solo el pH mostró cambios de ácido a neutro con respecto al testigo. Por lo tanto, este estudio demostró que el Zn derivado de las NP-ZnO es eficientemente regulado por las lombrices en concentraciones por debajo de la LC50 en un tiempo de exposición corto de 48 horas, mientras que a concentraciones superiores de 1,000 mg kg⁻¹ se vieron efectos, que fue influenciado por las nanopartículas de óxido de zinc.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la nanociencia y la nanotecnología son un ámbito innovador para la agricultura, la medicina, la industria alimentaria, entre otros sectores (Ahmend et al., 2021). Estas estudian materiales a una escala nanométrica como sus propiedades, así como, la manipulación y control de las mismas (Villamor, 2020). Por lo tanto, los nanomateriales son aquellos con dimensiones de 1 a 100 nm (González y Arroyo, 2022).

En el mercado global, así como en diferentes industrias productivas, la nanotecnología ha tenido un acelerado crecimiento en los últimos años (Domínguez et al., 2017). Entre los materiales a escala nanométrica se encuentran las nanopartículas (NP) de óxidos metálicos, las cuales cuentan con propiedades físicas tales como las ópticas, mecánicas, eléctricas y magnéticas, y propiedades químicas como son su estabilidad, toxicidad, y capacidad antifúngica y antibacteriana (Singh et al., 2021). También cuentan con una elevada área superficial y reactividad, que permite ser usada para diferentes aplicaciones en la ciencia y tecnología, ya que, al tener un tamaño a nanoescala éstas tienen una fuerza física y química que dirige el ensamblaje de los átomos y moléculas dando lugar a estructuras con elevada relación superficie-volumen o superficie-masa (Cáceres, 2018).

Derivado de su amplio uso, los estudios realizados por Keller et al., (2013) afirman que, en el año 2010, hubo una liberación aproximada de nanopartículas al medio ambiente de 310,000 toneladas métricas por año ($Tm \text{ año}^{-1}$), donde, el 16% fue liberado en suelos, permitiendo con esto proyectar que para el año 2020 habría un incremento de 500,000 toneladas (Pérez et al., 2020). Por lo tanto, cuando las NP metálicas son liberadas inadecuadamente al ambiente (por fuentes puntuales o no puntuales, accidentales o intencionales), estas pueden sufrir alguna transformación, como pueden ser su disolución, aglomeración, sedimentación o también un cambio en las fracciones superficiales de modo que pueden tener impactos positivos o negativos sobre el ambiente (Mwaanga et al., 2017).

Las nanopartículas metálicas que son liberadas se depositan, se concentran y se dispersan en el agua, suelo y aire de diferentes formas, a través de las descargas de residuos (aguas residuales y de relleno sanitarios) (Cáceres, 2018), por deposición atmosférica (Valerio et al., 2020), por liberación intencional de fertilizantes y plaguicidas, o también por aquellos productos de uso humano que las contienen polímeros, fármacos, materiales de construcción, productos antibacteriales, productos de limpieza, textiles, alimentos, etc. (López-de la Mora, 2019). Los mecanismos que regulan el transporte de las NP son la disolución, transformación, agregación, deformación, movilización y transporte difusivo (Monirul et al., 2016). En algunos estudios se han mencionado el efecto negativo que las NP tienen en los organismos acuáticos como algas, bacterias, protozoos, crustáceos y peces (Gupta y Dhawan, 2022), al igual que afecta en lugares de trabajo al aire libre o bajo techo (Jan et al., 2022), pero el suelo podría ser el receptor más grande de nanopartículas a diferencia de la atmósfera y los cuerpos de agua (Rajput et al., 2018), por lo cual tienen riesgos potenciales como la eliminación de nutrientes, daños en la actividad enzimática, afectación a bacterias (Valerio et al., 2020) y las cadenas alimentarias del ecosistema (Gupta y Dhawan, 2022). Además, pueden generar efectos negativos sobre la macrofauna que ahí habita (Valerio et al., 2020), ya que en varios informes se menciona la toxicidad para animales, bacterias terrestres (Hu et al., 2010), plantas, vertebrados, invertebrados y microorganismos (Nagar et al., 2022).

Entre las NP de óxidos metálicos mayormente empleados se encuentran las del dióxido de silicio (SiO_2), óxido de zinc (ZnO), óxido de titanio (TiO_2), óxido de hierro (Fe_2O_3), óxido de aluminio (Al_2O_3) y óxido de cerio (CeO_2) (Mohammadpour et al., 2019). El ZnO es una de las nanopartículas metálicas mayormente utilizadas, siendo el tercer óxido metálico de mayor volumen de producción anual Swiatek et al., (2017). Las nanopartículas de ZnO (NP- ZnO) son ampliamente empleadas en la electrónica, medicina y agricultura (Pineda, 2017), hasta su uso como protectores solares (filtros UV) y agentes antibacteriales (López-de la Mora, 2019). Estudios realizados por Romero et al., (2016) y Swiatek et al., (2017) mencionan que las NP- ZnO pueden entrar en el ambiente, y en específico en el suelo, a través de aguas

residuales, industriales o domésticas, o por el uso de fertilizantes para diferentes tipos de cultivos. Por lo anterior, la aplicación de las NP-ZnO ha tenido un impacto de contaminación cada vez más grave en los suelos, ya que puede generar efectos negativos sobre éste (Yu et al., 2019), es por ello que se han realizado diversos estudios de toxicidad para conocer si los organismos que habitan en el suelo podrían tener algún efecto (Martínez et al., 2019), estos organismos van desde tamaño micro (bacterias) hasta macro como las lombrices e insectos (Zerbino y Altier, 2006).

Las lombrices de tierra brindan beneficios en el suelo tales como la formación y mantenimiento de la fertilidad en los diferentes ecosistemas, transportan los nutrientes y minerales a la superficie a través de sus desechos, además que oxigenan el suelo. Por tal motivo, son unos de los bioindicadores más empleados para las pruebas de toxicidad (Martínez et al., 2019). Las lombrices tienen un mecanismo de alimentación que las hace estar expuestas a contaminantes del suelo, incluyendo las nanopartículas, ya que consumen suelo con residuos y hojarasca de la superficie, donde, lo que consume se une con músculos fuertes, y se mueven por el tracto digestivo (Mwaanga et al., 2017). La lombriz *Eisenia foetida*, conocida también como lombriz roja californiana, es utilizada para el reciclaje de residuos orgánicos a través de la vermicompost, además de diversos estudios ecotoxicológicos, debido a que sus ciclos de vida son cortos, con un intervalo grande de tolerancia a la temperatura, humedad y un manejo muy sencillo (Martínez et al., 2019).

Por lo anterior, este estudio tiene como propósito evaluar los posibles efectos de las nanopartículas de óxido de zinc, en diferentes concentraciones, sobre la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*), empleando un bioensayo de contacto directo basado en el procedimiento establecido por la modificación del protocolo 207 de la OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos).

2. JUSTIFICACIÓN

Los nanomateriales están teniendo una alta producción a nivel global, son utilizados en la ciencia y tecnología en varios países del mundo, entre estos, México. Entre los nanomateriales, se encuentran las nanopartículas de óxidos metálicos, siendo las de mayor uso las de óxido de titanio (TiO₂), óxido de aluminio (Al₂O₃) y óxido de zinc (ZnO), las cuales son ampliamente empleadas para la creación y diseño de diferentes productos en sectores como la medicina, la agricultura, alimentaria e industriales. Derivado de la gran producción de materiales nanoparticulados, se tienen muchas interrogantes de la interacción con el ambiente, sus posibles efectos en el suelo y en los organismos que habitan en éste, debido a su alta área superficial, reactividad, capacidad de adsorción, elevada relación superficie-volumen o superficie-masa, entre otros.

Por lo tanto, el mal manejo y liberación inadecuada, coadyuva a su deposición e infiltración en los suelos. En específico, los agroquímicos que contienen NP-ZnO, son los fertilizantes, plaguicidas, herbicidas, entre otros, el uso de ellos es abundante en la agricultura, generando riesgos de contaminación sobre el suelo. Como consecuencia, se genera una mayor rapidez de contacto con las lombrices de tierra, particularmente, con la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*), la cual, son epigeas y habitan en la superficie del suelo. Es por ello, que algunas investigaciones han estudiado los posibles efectos de las nanopartículas sobre las lombrices, observándose, que las NP-ZnO generan estrés oxidativo, problemas de peso y reproducción, principalmente a concentraciones $\geq 1,000 \text{ mg kg}^{-1}$, teniendo un impacto negativo, ya que, las lombrices de tierra son importantes para el suelo, descomponen la materia orgánica, oxigenan el suelo, dan fertilidad y transportan nutrientes en éste.

Por lo anterior, éste trabajo se basa en evaluar los efectos de las nanopartículas zmetálicas de óxido de zinc a diferentes concentraciones (0, 250, 500, 1,000, 1,500 y 2,000 mg kg⁻¹), que fueron seleccionadas de acuerdo con LC50, sobre la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) en un suelo arenosol.

3. ANTECEDENTES

Entre los años ochenta y noventa empezaron las investigaciones en materia de nanotecnología en todo el mundo. Sin embargo, en esos años no se conocía como la nanotecnología, sino como partículas ultrafinas y es a partir de la primera década del siglo XXI que se declaró el desconocimiento sobre los riesgos o efectos de la nanotecnología (Foladori y Invernizzi, 2012). En el 2012, se convirtió en una industria multimillonaria, ya que cerca de 800 productos del mercado, introdujeron nanopartículas en sus formulaciones por sus especiales propiedades (Cáceres, 2018). Por consiguiente, la nanotecnología ha tenido constantemente un gran crecimiento tanto en su productividad como en su aplicación, por lo que paralelamente exponen numerosos efectos tóxicos en el medio ambiente (Samrot et al., 2018).

Actualmente, en Estados Unidos, Alemania, Japón, Reino Unido y China están avanzando con investigaciones y producción de la nanotecnología. Varias instituciones como el Banco Mundial, OECD y la Organización de Estados Americanos produjeron influencias en países como Brasil, Argentina y México, también en países pequeños como Uruguay, República Dominicana, Costa Rica y Cuba, al igual que países medianos como Perú, Colombia, Venezuela y Chile (Foladori y Invernizzi, 2012). En México, empezó hace unos años a crecer la investigación sobre la nanotecnología, por tanto, iniciaron las creaciones de diferentes empresas y productos que comenzaron a usar nanopartículas, por esta razón se empezó a tener duda de las regulaciones de estos nanomateriales. Así mismo, en el 2015 se desarrollaron dos proyectos de norma mexicana para los estándares internacionales (PROY-NMX-R-80004-5-SCFI- 2015 y PROY-NMX-R-12901-1 SCFI-2015) mismas que establecen el uso y riesgo de diferentes nanomateriales respecto a su actividad biológica (López-de la Mora, 2019). Tabasco, solo cuenta con algunas empresas e instituciones educativas dirigidas a la nanotecnología, como es la División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez, División Académica de Ingeniería y Arquitectura (DAIA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) y el Centro de Investigación y Asistencia

Técnica, Unidad de Tabasco (CIATEQ), como centros de investigación, desarrollo e innovación tecnológica relacionado con la nanotecnología, en esa región.

Los beneficios y daños de los nanomateriales están presentes en el ambiente a medida que va creciendo su producción globalmente, por ello, se anticipó que aumentará a más de medio millón de toneladas para el 2020, en donde se aseguró que en el 2010 se liberó al ambiente aproximadamente 310,000 toneladas métricas cada año, de las cuales el 16% correspondientes a 50,000 Tm año⁻¹ se liberaron al suelo. Por lo tanto, el incremento de las NP y su liberación al ambiente provoca preocupación para los científicos y tecnólogos, puesto que podrían ser contaminantes emergentes de no cuidar su liberación (Pérez et al., 2020).

El uso de las nanopartículas en diferentes sectores ha crecido aceleradamente en los últimos 30 años. En consecuencia, las NP que se elaboran están cada vez más presentes en el ambiente, pero se tiene información limitada del daño que pueden provocar, es por ello que va en aumento la inquietud de los efectos a la salud de los ecosistemas, la cual puede algún impacto en los organismos invertebrados como son las lombrices de tierra (Romero et al., 2016). Existen treinta y seis estudios nanotóxicológicos sobre las lombrices de tierra, estos han sido reportados desde el 2008, de manera, que hay diferentes estudios sobre los efectos de diferentes nanomateriales en especies de lombrices que son representativas para el suelo (Kwaky y An, 2015).

Estudios realizados por Samrot et al., (2018), evaluaron la toxicidad de las nanopartículas de plata, a diferentes concentraciones, sobre las lombrices de tierra como es *Eudrilus eugeniae* (lombriz epigea). Las nanopartículas que utilizaron, se sintetizaron a través de reducción química; los estudios histológicos realizados señalaron que las nanopartículas de plata causan fibrosis y trastorno intestinal en las lombrices. A partir de esta investigación, se encontró que las nanopartículas de plata son tóxicas y tienen un impacto negativo para *Eudrilus eugeniae* (lombriz epigea), además que las imágenes histológicas señalaron efecto tóxico en los tejidos e intestino. Por lo cual, los autores concluyeron que es de mucha relevancia

desarrollar un sistema de eliminación para las nanopartículas que se liberan al ambiente (Samrot et al., 2018).

En cambio, en los estudios realizados por Bouguerra et al., (2016) evaluaron el impacto de las nanopartículas de óxido de titanio (TiO₂) y óxido de silicio (TiSiO₄) sobre la biota del suelo, empleado un suelo artificial de la OCDE como el sustrato de prueba, enriquecido con suspensión de agua a diferentes concentraciones de NP-TiSiO₄, con el fin de saber el límite de riesgo para este material. Por lo tanto, obtuvieron un 40% de evasión para las lombrices (*Eisenia andrei*) con la concentración más alta probada (1,000 mg kg⁻¹ de suelo con NP-TiSiO₄), pero no se mostró algún efecto relevante sobre la reproducción de las especies de invertebrados. La NP-TiSiO₄ se mostró poco tóxica para la biota del suelo, sin embargo, puede ser detectado por algunos invertebrados del suelo luego del contacto inmediato y dañar el crecimiento de las plantas.

Actualmente, hay pocos estudios de los efectos de las nanopartículas de ZnO sobre las lombrices de tierra. Se ha demostrado que las lombrices de tierra se ven afectadas en cuanto a la mortalidad, peso y reproducción por las NP-ZnO a concentraciones $\geq 1,000$ mg kg⁻¹ (Pérez et al., 2020). También algunos estudios han propuesto que la toxicidad de las NP posiblemente pueda estar relacionadas con los iones de Zn⁺² liberados luego de su disolución (Swiątek et al., 2017).

La disponibilidad del zinc puede ser más baja en suelos con pH alcalino y con un contenido alto de carbono orgánico (Romero et al., 2016). Por otra parte, las nanopartículas pueden entrar con facilidad por su tamaño a las estructuras biológicas y tener un impacto tóxico. Sin embargo, aún no se tiene claro si los efectos tóxicos obtenidos en los organismos son el resultado de iones metálicos disueltos o las mismas nanopartículas. Uno de los efectos tóxicos que se han comprobado en los organismos como es en las lombrices de tierra es el estrés oxidativo. El estrés oxidativo es una condición en la que las especies reactivas de oxígeno (EROS) o radicales libres, generados extra o intracelularmente, ejercen efectos tóxicos en las células del organismo. Los organismos poseen un mecanismo para poder prevenir daño resultante de las EROS, que son las enzimas

antioxidantes endógenas y antioxidantes no enzimáticas como el superóxido dismutasa, el glutatión peroxidasa, la catalasa y el glutatión, es entonces que, si estos mecanismos no eliminan las EROS, es donde se produce el estrés oxidativo (Mwaanga et al., 2017).

4. MARCO TEÓRICO

4.1 La importancia de los Nanomateriales

La nanotecnología (NT) tiene un gran impacto por sus propiedades físicas-químicas, biológicas, mecánicas y eléctricas, donde, su estudio y desarrollo se basa en la creación de nanomateriales (NM) mejorados (Calvillo, 2019). Estos tienen un tamaño de 1 a 100 nm (una milmillonésima parte de un metro) (Findik, 2021), que, de acuerdo a su tamaño, estructura y forma, tienen propiedades diferentes a los materiales de granel (Sajid, 2022), como: el área superficial, capacidad de intercambio de cationes y adsorción de iones, composición y reactividad (Mukhopadhyay, 2014). Entre los nanomateriales se encuentran las nanopartículas (NP) que cuentan con ventajas y gran potencial, en la relación de área superficial/volumen, reactividad, manipulación molecular y dinámica física (Ameen et al., 2021). Es por ello, que son aplicadas en los campos de la electrónica, fotónica, biomédica (Allouche, 2013) y cosmetología, por tener más tiempo de vida y alta estabilidad (Fytianos et al., 2020).

4.1.1 Clasificación de las nanopartículas (NP)

Las NP están naturalmente en el ambiente derivado de procesos físicos, químicos y biológicos (Yang et al., 2021), como erupciones volcánicas e incendios forestales (Frejo et al., 2011), o de origen mineral que se encuentran como polvo del desierto, nieblas, etc. (Staff, 2015), También, son diseñadas por el hombre o pueden ser antropogénicas, que son aquellas que se preparan para las actividades humanas, estas están compuestas de materiales diseñados y fabricados por la nanotecnología (Yang et al., 2021). Este tipo de nanopartículas se pueden clasificar de acuerdo a su composición: a base de carbono, metales (Díaz del Castillo, 2012), óxidos metálicos, cerámicos y polímeros (Sajid, 2022), al igual, son clasificadas de acuerdo

a sus dimensiones como 0D, 1D, 2D y 3D, dependiendo de las formas y tamaños que cada nanopartícula posea (Ahire et al., 2022).

4.1.2 ¿Qué son las Nanopartículas de óxido de Zinc (NP-ZnO)?

El óxido de zinc (ZnO) es un compuesto químico inorgánico (Czyzowska y Barbasz, 2020), semiconductor de tipo n, con una energía de banda de 3.2 eV (Ahire et al., 2022), de color blanco o amarillento (Pineda, 2017).

La nanotecnología ha creado nanopartículas de óxido de zinc con un tamaño inferior a 100 nm (Czyzowska y Barbasz, 2020), tienen propiedades únicas, como son, la estabilidad química, fotónica, optoelectrónica, antibacteriana, antifúngicos y filtración de rayos UV (Beegam et al., 2016). Todas esas propiedades se deben a los factores de tamaño, forma, solubilidad y pH, y es por ello, que actualmente las NP-ZnO son el tercer material metálico más utilizado (Czyzowska y Barbasz, 2020) en la cosmetología, medicina, electrónica, entre otros campos (Keerthana y Kumar, 2020). Las NP-ZnO se adicionan a formulaciones de productos de cuidado personal, biosensores, fabricación de cauchos, aditivos para alimentos (Collins et al., 2012), cosméticos, pinturas, fármacos, en agroquímicos y protectores solares (Beegam et al., 2016). Las NP-ZnO son importantes para el sector agrícola, ya que, se han obtenido buenos resultados en la germinación y crecimiento de los cultivos, por la cual, son introducidas en fertilizantes, plaguicidas, reguladores, funguicidas, entre otros (Lui et al., 2022).

El uso excesivo de las nanopartículas de óxido de zinc en la agricultura puede traer efectos o riesgos, ya que se estima que se producen cada año entre 550 a 33,400 toneladas de NP-ZnO (Rajput et al., 2018). Por la cual, el uso directo de estas NP en el suelo puede afectar sus propiedades (Lui et al., 2022), alteración en la sustancia húmica, porosidad, conductividad hidráulica y en los iones, también, puede afectar el pH del suelo; se ha reportado que entre más ácido sea, mayor toxicidad, y entre más alcalino, menor toxicidad (Rajput et al., 2018).

Las NP-ZnO han mostrado efectos fitotóxicos en las plantas, disminuyendo la biomasa de las raíces (Rajput et al., 2018)., como fue el caso de un estudio que se realizó con rábano, lechuga y maíz, donde obtuvieron que las NP-ZnO afectaron la germinación de la planta, al igual que la disminución de biomasa y forma de las raíces (Lee et al., 2010). En otro estudio con frijol y trigo obtuvieron efectos genotóxicos y alargamiento de las raíces (Sheteiwy et al., 2021). La macrofauna del suelo está compuesta de todos aquellos organismos que miden un centímetro de largo y 2 mm de diámetro, en este grupo se pueden encontrar las Oligochaeta, lombrices de tierra; Hexapoda, hormigas; Hexapoda, termitas; Hexapoda, escarabajos (Bignell et al., 2012), Miriápodos, ciempiés; Gastropoda, caracoles y Hexapoda, babosas. La mayoría de ellos tienen un ciclo de vida largo, poca dispersión y se mueven lentamente, también tiene capacidad para cavar el suelo y crear poros (Zerbino y Altier, 2006). En un estudio realizado en el 2010 se realizaron pruebas de toxicidad aguda con lombrices de tierra, donde se utilizó papel filtro y arena, también se hizo prueba crónica con suelo artificial y arena con NP-ZnO y NP-TiO₂, donde, se observó que las NP-ZnO tuvieron un efecto toxico en la prueba de papel filtro de la prueba aguda y la del suelo artificial de la prueba crónica. Sin embargo, con las NP-TiO₂ no se observó toxicidad alguna, en el caso de la prueba aguda con arena, tampoco, se presentó efectos de toxicidad (Lee et al., 2010).

4.1.3 Clasificación e importancia de la macrofauna del suelo

La macrofauna del suelo: “Es un grupo funcional que es importante para la regulación de procesos ecosistémicos, como la descomposición de la materia orgánica, formación de estructuras y reciclaje de los nutrientes” (Tapia et al., 2018). Existen una amplia variedad de organismos que coadyuvan a la distribución de la materia orgánica en el suelo (Bignell et al., 2012), la disponibilidad de nutrientes, la modificación de la estructura del suelo, generando con ello el crecimiento de las plantas, la mejora en la distribución del agua y la reducción de los niveles de contaminación (Zerbino y Altier, 2006).

La macrofauna se puede dividir en varios grupos dependiendo las actividades y alimentación de cada uno de ellos, como:

- **Micro depredadores:** son invertebrados pequeños como protozoos y nematodos que ayudan a la mineralización de la materia orgánica (Jiménez et al., 2003).
- **Detritívoros:** son aquellos invertebrados que se encuentran en las hojas secas del suelo y descomponen los residuos vegetales y animales que se encuentran en las hojas secas, donde comparten trabajo junto a los microorganismos. En esta clasificación se pueden encontrar los caracoles, cochinillas, lombrices (Zambrano, 2021), termitas y otros transformadores de hojas secas (Bignell et al., 2012).
- **Depredadores:** son los que habitan en la superficie del suelo, encargándose del equilibrio de poblaciones con los recursos disponibles, entre ellos están las arañas, escarabajos y escorpiones (Zambrano, 2021).
- **Transformadores de hojarasca:** son aquellos que consumen materia orgánica (Bignell et al., 2012) y asimilan metabolitos por la actividad microbiana (Jiménez et al., 2003), como son los ácaros grandes y lombrices epigeas (Bignell et al., 2012).
- **Ingenieros del ecosistema:** son los que se encargan de la transformación de la estructura física del suelo, se pueden encontrar las lombrices, hormigas y termitas (Zambrano, 2021). Ellos consumen materia orgánica y minerales (Bignell et al., 2012). Algunas de las estructuras que realizan son llamadas estructuras biogénicas microbianas (Jiménez et al., 2003). Esto trae beneficios de oxigenación, transformación de materia orgánica, infiltración de agua y ayudan con la estructura de otras comunidades de organismos (Zambrano, 2021).

4.2 Generalidades de las lombrices de tierra (Annelida:oligochaeta)

En todo el mundo se conocen 3,670 especies de lombrices de tierra, que varían de tamaño desde los 5 a 90 cm de largo (Rodríguez, 2011). La lombriz de tierra es un anélido con una simetría bilateral (Ríos, 2003), tiene 143 segmentos, en su primer segmento se encuentra la cabeza y no tiene ojos, es hermafrodita y en el segmento 33 al 37 tiene su clitelo que significa su madurez sexual (Mendoza, 2018). Cuando está lista sexualmente se desarrolla el clitelo, donde, se producen los llamados cocones (huevos); el tiempo de eclosión va de acuerdo a cada especie de lombriz (Ríos, 2003). Las lombrices se alimentan de la materia orgánica, al igual que, mezclan material de plantas que se encuentra en el suelo; estos materiales lo pasan a través de sus cuerpos y es mezclado con el mucus o la secreción que producen en sus intestinos (Rodríguez, 2011).

Las lombrices de tierra han sido llamadas las ingenieras de los ecosistemas, ya que modifican la distribución de las comunidades bacterianas y fúngicas. Es por ello que todas las actividades que realizan son muy importantes para el suelo, porque, un suelo con lombrices es fértil y con vida. Las lombrices aportan materia orgánica, agregados, mejoran la estructura (Ortiz y Ortiz, 2018), incrementan los nutrientes, facilitan la oxigenación, por la cual benefician al suelo, volviéndolo poroso (García, 2015), dándole aireación, fertilidad, infiltración y ayudan al crecimiento de las plantas. Por lo tanto, se ha demostrado que el funcionamiento de los ecosistemas terrestres depende de las lombrices por su alto beneficio para las propiedades físicas del suelo (Ortiz y Ortiz, 2018). Es por lo que se deben realizar actividades que favorezcan su supervivencia en vez de afectarlas.

García, (2015) menciona que hay actividades humanas que las afectan, como el uso de productos para la agricultura, como los plaguicidas, fungicidas, metales pesados entre otros productos, estos pueden afectar su crecimiento y su reproducción (Ríos, 2003).

4.3 Categorías ecológicas de las lombrices e importancia

Existen tres grupos de lombrices de acuerdo con sus funciones y alimentaciones, que son epigeas, endógeas, anécicas.

- **Epigeas:** Estas lombrices viven en la superficie del suelo y se introducen a cinco centímetros de profundidad (Ortiz y Ortiz, 2018). Se alimentan de residuos de plantas y vegetales que se encuentran en la superficie (García, 2015), son de una pigmentación roja o marrón, tienen un alto nivel de fecundidad (Ortiz y Ortiz, 2018) y son usadas para lombricomposta (Ortiz y Gregorio, 2021), sin embargo, este tipo de lombrices tienden a ser sensibles a los cambios ambientales (Ortiz y Ortiz, 2018).
- **Endógeas:** Estas lombrices viven a una profundidad de 30 cm, se alimentan de suelo o materia orgánica a la profundidad donde viven y ahí mismo realizan bioestructuras (Ortiz y Gregorio, 2021) que benefician a la aireación e infiltración (Ortiz y Ortiz, 2018). Las actividades que realizan estas lombrices ayudan a modificar las estructuras físicas, químicas y biológicas del suelo (Ortiz y Gregorio, 2021), ya que son de mayor tamaño, tienen capacidad para ingerir bacterias y hongos (Ortiz y Ortiz, 2018).
- **Anécicas:** Estas lombrices tienen un comportamiento combinado de los dos anteriores grupos (Ortiz y Gregorio, 2021). Salen a la superficie para alimentarse de materia orgánica, también realizan galerías verticales permanentes y profundas de hasta un metro (Rodríguez, 2011), al igual que son las especialistas en mezclar el suelo, en tener infiltración, porosidad y aeración a estas profundidades (Ortiz y Ortiz, 2018).

4.4 Lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*)

La lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) es un anélido de clase oligoqueta de la familia *Lombricidae* (Rivera et al., 2018). Su cuerpo es alargado con forma rayada

y entre segmentos tiene un color pálido o amarillo, por la cual la llaman la lombriz rayada o tigre (Domínguez y Pérez, 2010). Está dividida por 80 a 120 segmentos, todos son iguales en especial el primero que se le dice prostomio, donde se encuentra su cabeza y boca, y el último segmento es pígido donde se encuentra el ano (Rivera et al., 2018). Llegan a pesar aproximadamente un gramo y su longitud aproximadamente es de 8 a 10 cm con un diámetro de 3 a 5 mm; además, son hermafroditas y tiene una reproducción cruzada entre dos lombrices girando al lado opuesto (Mendoza, 2018).

La *Eisenia foetida* es sexualmente adulta a los 2 meses de vida, y esto se comprueba con el desarrollo del clitelo que se encuentra entre los segmentos 24 al 35. En el clitelo están los órganos sexuales femeninos como masculinos, cada lombriz adulta puede tener hasta 2 cocones, donde en cada cocón nacen de 2 a 9 lombrices (Rivera et al., 2018) de color blanco. Al pasar de 5 a 6 días el color cambia a color rosa (Mendoza, 2018), mientras que cuando alcanzan su madurez dentro de 45 a 90 días su color es rojo (Rivera et al., 2018). En los tiempos fríos y calurosos se tiene menos reproducción, la mayor reproducción es en los días templados y lo más adecuado para una buena reproducción es a una temperatura de 20 grados centígrados (Fuentes, 2010).

La lombriz roja californiana se desarrolla a una temperatura óptima de 20 °C a 22 °C, sin embargo, no pueden sobrevivir a temperaturas menores de 10 °C y mayor de 30 °C. Deben tener un 85% de humedad, ya que respiran a través de su cuerpo. También es importante que el pH del sustrato tenga las condiciones adecuadas, por la cual, debe presentar un pH entre 5 y 8 y una conductividad eléctrica de 2.5 a 3.0 dS m⁻¹ (Cruz, 2005).

Estas lombrices se alimentan de residuos orgánicos, consumen lo equivalente a su peso, el 60 % que comen es convertido en abono para el suelo y lo restante es para su metabolismo (Mendoza, 2018). Este tipo de lombriz trae muchos beneficios al suelo como fertilidad y mayor disponibilidad de nitrógeno, azufre y fósforo. También convierte la materia orgánica en abonos para plantas (Rivera et al., 2018), y es muy

utilizada para hacer vermicompost, ya que se adapta al ambiente y al pH, humedad, temperatura entre otros (Pérez et al., 2015).

4.5 Generalidades del suelo

El suelo es la capa superficial donde se desarrollan diferentes tipos de organismos y plantas, se compone de minerales de diferentes tamaños, como son la arena, limo y arcilla, también, se compone de materia orgánica que son los restos de animales y plantas. Estos juegan con un papel importante, ya que, le brindan fertilidad al suelo y nutrientes a las plantas (Pereira, 2015). Así mismo, tiene componentes como el agua que ayuda a la formación del suelo, solubiliza a los minerales y orgánicos que absorben las plantas, regula la temperatura y ayuda a la hidratación de las semillas. Por último, regulan el aire que es importante para la respiración de las plantas y los organismos que ahí habitan, la cual, está compuesto por oxígeno, nitrógeno, anhídrido carbónico (Van Konijnenburg, 2006). La interacción del suelo con los organismos coadyuva a los ciclos globales que hacen factible la vida, ya que son los principales en desempeñar funciones para los sistemas biológicos, atmosféricos e hidrológicos, como: regular la materia orgánica, captar el carbono y las emisiones de gases, y hacen disponibles los nutrientes, mejorando así la salud del suelo (FAO, 2015).

El suelo está dividido en diferentes tipos, en el caso de esta investigación se utilizó arenosol que tiene una textura franco arenosa, este tipo de suelo tiene bajos niveles de materia orgánica y de retención de agua (Vázquez, 2014), se encuentran en lugares con climas húmedos, perhúmedos, fríos y cálidos (FAO, 2008).

4.6 Propiedades fisicoquímicas del suelo

Las propiedades físicas son las que se pueden observar y medir sin alguna alteración química (Fertilab, 2019). Estas propiedades son importantes para el

suelo, el rendimiento de cultivos y para las mismas plantas (Vaccaro, 2019). En este estudio se analizarán propiedades físicas como densidad real y aparente.

- **Densidad aparente:** es la que permite saber que compactación tiene los suelos, porque entre más densidad aparente tengan mayor compactación tendrán (Fertilab, 2019). Este parámetro está relacionado con la masa de suelo seco y su volumen total (Vaccaro, 2019), la cual podemos saber cuál es su compactación, la porosidad, que tanto dispone de agua y oxígeno (Carvajal, 1997).
- **Densidad real:** este es un indicador de minerales que pueda tener los diferentes suelos, ya que cuando tienen mucha materia orgánica más densidad real tendrán (Fertilab, 2019). Este parámetro tiene una relación entre la masa de partículas y volumen, pero sin tener en cuenta el espacio poroso (Carvajal, 1997).

Las propiedades químicas del suelo son importantes puesto que aportan nutrientes para tener un suelo sano y fértil (Pereira et al., 2011). En este estudio las propiedades químicas que se analizaron fueron el pH, materia orgánica, conductividad eléctrica y capacidad de intercambio catiónico.

- **pH:** indica cuanta acidez en solución de suelo tiene (Pereira et al., 2011), también es la capacidad de obtener iones positivos del suelo (Fertilab, 2019). Este parámetro es importante para el desarrollo de las plantas y fauna que habita en el suelo, también aumenta la velocidad de humificación y mineralización de nutrientes (Pereira et al., 2011).
- **Materia orgánica:** es aquella que se compone de los residuos de plantas y animales descompuestos, o también, a partir de productos de degradación, cuerpos de microorganismos vivos o muertos (Pereira et al., 2011). Existen dos tipos de materia orgánica, la lábil, que es disponible y de propiedades químicas que permiten que los microorganismos la digieran rápido, y la

materia orgánica recalcitrante, que se compone por ácidos húmicos y fúlvicos (Fertilab, 2019).

- **Conductividad eléctrica:** determina la capacidad que tiene el suelo de conducir electricidad, la cual depende mucho de la cantidad de sales que posean de forma ionizada o disueltas, entre más sales mayor es la conductividad eléctrica (Fertilab, 2019).
- **Capacidad de intercambio catiónico:** a través de ella se puede ver la cantidad de cationes totales al igual que los nutrientes que tiene el suelo (FAO, n.d.), también es la que retiene los cationes con la carga negativa en el suelo. Con eso se puede obtener la disponibilidad y cantidad de nutrimentos para las plantas. Los suelos arenosos tienen baja cantidad de materia orgánica y arcilla, por lo cual, carecen de capacidad de intercambio catiónico (Fertilab, 2019).

4.7 Prueba de toxicidad: Dosis-respuesta

Las pruebas de toxicidad que se realizan son importantes para identificar y evaluar efectos sobre algún tipo de contaminante o un material que se pueda encontrar sobre el suelo. En el protocolo estandarizado de la OECD 207 se evalúa/valora la toxicidad aguda en un suelo usando lombrices de tierra. En esta prueba se puede evaluar parámetros que indiquen toxicidad o no, como, es la pérdida de peso, movimiento, reacción a un estímulo, líquido celómico, mortalidad y pigmentación (Martínez et al., 2019).

En el caso del suelo, se realizaron pruebas físicas y químicas para saber si las NP-ZnO tienen algún tipo de efecto en las propiedades del suelo, como el pH, densidad real, densidad aparente, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, y materia orgánica.

4.8 Como afecta la acumulación y exposición de las NP a los organismos del suelo

Los productos desarrollados con nanopartículas pueden tener como disposición el ambiente, la cual, los materiales se introducen por diferentes fuentes (Frejo et al., 2011) que pueden ser puntuales o no puntuales y accidentales o no accidentales (Cáceres, 2018). También las NP tienen rutas de liberación (Frejo et al., 2011), que se dividen en cuatro etapas: producción, transporte, uso y disposición final, las cuales llegan a los suelos (Albert et al., 2020).

El desarrollo y creación de las nanopartículas ha traído consigo beneficios para los diferentes campos (Jan et al., 2022) como aumentar la competitividad a nivel nacional y tener mejores ganancias (Lee et al., 2010). Pero el uso excesivo podría traer consecuencias para el ambiente (Jan et al., 2022), teniendo acumulaciones en un periodo a largo plazo, así, obteniendo cambios en los procesos fisiológicos del suelo, trayendo afectaciones a los microbios, plantas y animales (Bosé, 2022).

Unos de los productos principales que contienen nanopartículas son los agroquímicos como los nanofertilizantes, nanoplaguicidas y nanofunguicidas producidos por la NT que son utilizados para la agricultura (Ameen et al., 2021). Estas nanopartículas también pueden encontrarse en la industria electrónica, en los neumáticos, pilas de combustibles y otros productos que se utilizan en la vida cotidiana (Frejo et al., 2011).

4.8.1 A las propiedades del suelo

La exposición continua del suelo con las NP tiene efectos, tales como, la citotoxicidad, fitotoxicidad y estrés oxidativo, que es provocado por las propiedades físicas y químicas, la porción de tipo de metales, sus estructuras fibrosas y la carga superficial, esto depende del tipo de superficie que tenga la partícula o tamaño (Albert et al., 2020).

En el caso de las NP-ZnO puede afectar las propiedades del suelo (Liu et al., 2022), como, alteración en la sustancia húmica, porosidad, conductividad hidráulica y en los iones, también, puede afectar en el pH del suelo, donde, se han reportado que entre más ácido sea, la toxicidad será mayor y entre más alcalino sea, la toxicidad será menor (Rajput et al., 2018).

4.8.2 A las lombrices de tierra

Las NPs también afectan a la macrofauna del suelo, como son los invertebrados que entre ellas están las lombrices de tierra (Nagar et al., 2022), donde les causa toxicidad letal y subletal. Pero de acuerdo al tipo de especie y tipo de nanopartícula tienen efectos distintos: se ha notado que en algunas no afectan su crecimiento ni supervivencia, pero si en su reproducción, además, en concentraciones de 5,000 mg kg⁻¹ de NP-Al las lombrices evitan el suelo (Lee et al., 2010).

4.9 Técnicas de caracterización de las nanopartículas (NP)

La caracterización de las nanopartículas permite determinar sus propiedades físicas y químicas (Singh et al., 2021). Las caracterizaciones de las NP pueden ser a través de diferentes métodos, que dependiendo de las propiedades del material y el medio en donde se encuentran, es que se puede saber qué técnica de caracterización usar (González y Arroyo, 2022).

4.9.1 Difracción de rayos X (DRX)

La técnica de difracción de rayos X se utiliza en estudios y análisis experimentales en sólido (Hernández, 2016), y es el único método que puede brindar información cualitativa y cuantitativa sobre los compuestos cristalinos (Esquivel y Cancino, 2017). Esta técnica no es destructiva para las caracterizaciones de los diferentes minerales. La DRX permite conocer la posición que tienen los átomos y los espacios

que pueden tener entre los planos atómicos. También puede determinar el tamaño, estructura cristalina, orientación cristalográfica, deformación residual y el coeficiente de expansión térmica, de materiales como los minerales, polímeros, metales y cerámicas (Ali et al., 2022). Se basa en incidir rayos X en el material que se da en longitudes nanométricas (Hernández, 2016). Estos rayos se dispersan por los diferentes electrones que se encuentran en el entorno del núcleo, donde, las ondas son dispersadas y emitidas en diferentes direcciones, por ende, la difracción es la interferencia de estos rayos X dispersados (Ali et al., 2022). La DRX de un material se obtienen a través de un difractómetro y el tamaño del cristalito se calcula con la ecuación de Debye-Scherrer (Uribe et al., 2019).

$$d = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta}$$

Donde d es el tamaño del cristalito, k es la constante de Scherrer con valor de 0.89, λ es la longitud de los rayos X, β es el ancho medio del pico máximo de difracción (FWHM) y θ es el ángulo de Bragg.

4.9.2 Microscopia electrónica de barrido (FE-SEM)

La técnica de microscopia electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM, por sus siglas en inglés) se realiza con un equipo que utiliza electrones en lugar de luz para dar imágenes tridimensionales (Singh et al., 2021) con alta resolución (Hernández, 2016). El FE-SEM se lleva a cabo por la producción de un haz de electrones con alta energía, donde, dicho haz está colimado por lentes electrónicos y se enfoca en la muestra. El detector emite señales que se visualizan de forma analógica o digital (Ipohorski y Bozzano, 2013); la imagen que se obtiene se le llama micrografía electrónica de barrido, ya que, este tipo de microscopio da imágenes con un aumento de 1,000 a 10,000 X (Hernández, 2016). A través, de esta técnica se puede saber la morfología (formas y tamaños) que tienen las nanopartículas sólidas (Esquivel y Cancino, 2017), puesto que, estas pueden ser tubulares,

cilíndricas, planas, esféricas y cónicas, al igual, que puede haber formas irregulares. Así mismo, se pueden observar y caracterizar superficialmente a sólidos orgánicos e inorgánicos (Singh et al., 2021).

5. OBJETIVOS

General

Evaluar la respuesta de la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) a los efectos de las NP-ZnO mediante un bioensayo de toxicidad aguda.

Específicos

- Caracterizar las propiedades estructurales, morfológicas y texturales de las NP-ZnO a través de las técnicas DRX y FE-SEM.
- Medir la calidad del suelo por medio de sus propiedades físicas y químicas antes del bioensayo y posterior a su dopaje con las NP-ZnO.
- Analizar el efecto de las NP-ZnO sobre la respuesta en las lombrices de tierra *Eisenia foetida* utilizando el método modificado de la OECD 207 para toxicidad aguda.

6. METODOLOGÍA

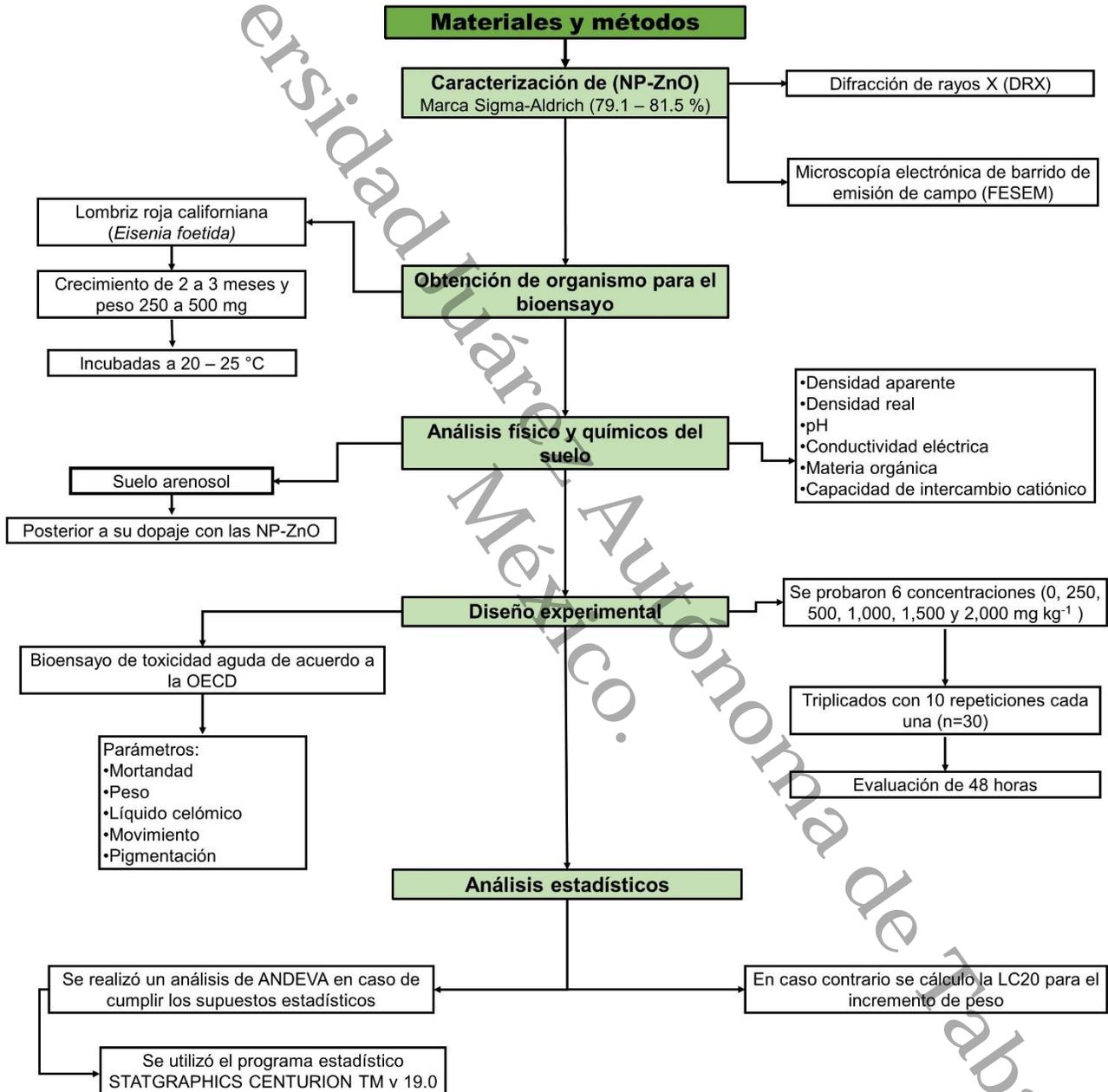


Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología a seguir para la evaluación del efecto de las NP-ZnO en la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*).

6.1 Caracterización de nanopartículas de óxido de zinc (NP-ZnO)

Las nanopartículas de óxido de zinc utilizadas fueron en polvo y se adquirieron de manera comercial por la marca Sigma-Aldrich (79.1 – 81.5% Zn).

Para las propiedades estructurales de las nanopartículas de ZnO, tales como el tamaño de cristalito y estructura cristalina, se empleó la técnica de la difracción de rayos X (DRX). La estimación del tamaño de cristalito se realizó a través de la ecuación de Debye-Scherrer:

$$d = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta}$$

El análisis de las NP-ZnO, se realizó en el laboratorio de nanotecnología de la División Académica de Ingeniería y Arquitectura (DAIA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT).

Las propiedades morfológicas (tamaño de partícula y morfología) se determinaron a través de la microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FE-SEM, por sus siglas en inglés), las cuales se realizó en el Laboratorio Nacional de Nano y Biomateriales (LANNBIO) CINVESTAV – Unidad Mérida. El área superficial de las NP-ZnO, se obtuvo a través de la hoja de especificaciones del reactivo.

6.2 Obtención de organismos

Los organismos que se utilizaron para el bioensayo fueron lombrices rojas californianas (*Eisenia foetida*) (figura 2). Estas se obtuvieron del Laboratorio de Remediación de la División Académica de Ciencias Biológicas. Fueron utilizadas las adultas cliteladas, con un periodo de crecimiento alrededor de 2 a 3 meses y un peso de 250 a 500 mg. Estas previamente fueron colocadas en una charola de plástico con estiércol de vaca y caballo, a una temperatura de 20-25 °C y humedad de 80 %, bajo condiciones indirectas a la luz.



Figura 2. Organismo de prueba empleado en el bioensayo: Lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*).

6.3 Análisis de calidad de suelo

Para esta investigación se seleccionó un suelo de tipo arenosol que se obtuvo del banco de suelos del laboratorio de remediación DACBiol-UJAT, que fue colectado en el municipio de Emiliano Zapata al sur del estado de Tabasco, con coordenadas 17°43'37" latitud norte y 91°44'4.5" longitud oeste con una profundidad de 0-30 cm (Sarracino, 2015). Es un suelo que tiene una manipulación fácil a diferencia de los gleysoles y vertisoles. Es por ello, que fue utilizado para la realización de esta evaluación con el fin de obtener los efectos de las nanopartículas de óxido de zinc en las propiedades físicas y químicas del suelo.

El suelo fue caracterizado con los análisis de pH, conductividad eléctrica, densidad real, densidad aparente, capacidad de intercambio catiónico (CIC) y materia orgánica. Así mismo, se evaluaron nuevamente las propiedades físicas y químicas después de su dopaje con las nanopartículas de óxido de zinc. Dichos análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de remediación.

6.3.1 pH

El pH se evaluó a través de la metodología establecida por Muñoz et al., (2013) y la norma NOM-021SEMARNAT-2000. Para llevarlo a cabo se utilizaron 10 g de suelo

(previamente tamizado), fueron colocados en matraces Erlenmeyer, se añadieron 25 mL de agua desionizada y se homogeneizó con ayuda de un mezclador orbital a 120 rpm. Posteriormente, se dejaron sedimentar una hora y el sobrante fue filtrado con papel filtro Whatman 42 con diámetro de 110 mm. Finalmente se tomaron las lecturas con un potenciómetro de la marca HANNA, modelo HI98195.

6.3.2 Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

La CIC fue evaluada por el método de Muñoz et al., (2013) y Schollenberger et al., (1945). Fueron utilizados 5 g de suelo que se colocaron en un embudo con papel filtro y en donde se realizaron tres lavados con soluciones de cloruro de calcio (CaCl_2), alcohol etílico grado reactivo al 98 % de pureza, y cloruro de sodio (NaCl). Se aforó a 50 mL con la solución de NaCl. Asimismo, se le agregaron cinco gotas de solución de cianuro de potasio (KCN), clorhidrato de hidroxilamina (NH_2OHHCl), negro de eriocromo y, 10 mL de solución buffer pH 10, y cada muestra se tituló con EDTA.

6.3.3 Densidad real (DR)

A través del método establecido por Muñoz et al., (2013) y Aguilera et al., (1972) se llevó a cabo este análisis. Se ejecutó pesando los matraces aforados, donde, se emplearon 5 g de suelo. Posteriormente, fueron colocados en los matraces y se añadió agua. Luego se dejaron reposar para aforarlos, y se procedió al pesado de los matraces con la mezcla y se concluyó con el pesado de los mismos matraces, pero aforados con agua, al tener todos los pesos se efectuaron los cálculos mediante la fórmula.

$$\rho = \frac{w \text{ suelo}}{[(w \text{ suelo} + w \text{ agua}) - (w \text{ mezcla} - w \text{ matraz}]}$$

Donde w_{suelo} es el peso del suelo, w_{agua} el peso del agua restándole el peso del matraz, w_{mezcla} es el peso del suelo más el agua y w_{matraz} es el peso del matraz seco.

6.3.4 Densidad aparente (DA)

El método de este análisis fue realizado acorde a Beavers et al., (1972) y Muñoz et al., (2013), donde, se inició pesando las probetas con un volumen 25 mL, luego, fueron llenadas con suelo, después, se les dieron diez golpes pequeños sobre una franela y se aforaron nuevamente hasta 25 mL. Una vez aforadas se procedió a pesarlas, y finalmente, se hicieron los cálculos correspondientes con la fórmula de $\rho = m/v$, donde m es el peso del suelo (peso suelo – peso probeta) en gramos, la v es el volumen de la probeta y ρ es la densidad.

6.3.5 Conductividad eléctrica (CE)

Para realizar el análisis de conductividad eléctrica se utilizó la metodología establecida por Porta et al., (2013) y el método de AS-16 y AS-18 de la NOM-021-RECNAT-2000. Se emplearon 10 g de suelo (previamente tamizado), luego, se colocaron en matraces Erlenmeyer, se añadieron 50 mL de agua desionizada, después, se mezclaron en el multiagitador a 80 rpm y se decantaron las muestras. Fueron filtradas y se midieron con el equipo multiparamétrico marca HANNA modelo HI98195.

6.3.6 Materia orgánica (MO)

El porcentaje de materia orgánica se determinó usando el método de La manna et al., (2007), Jackson, (1976) y Dean, (1974). Primero se registró el peso constante de los crisoles, se colocaron 5 g de suelo, se introdujeron en la mufla durante una hora, posteriormente se registró nuevamente el peso y se obtuvieron los resultados por diferencia de pesos.

6.4 Bioensayo

El bioensayo se realizó usando organismos de prueba *Eisenia foetida* (Lombriz roja californiana). Se evaluaron los posibles efectos de las NP-ZnO, a través de la exposición al contacto directo con el suelo contaminado (OECD No. 207, 1984). Se observaron características como: mortalidad, pérdida de peso, respuesta al estímulo, movimiento, y expulsión de líquido celómico (Domínguez et al., 2020).

El diseño experimental se planteó completamente aleatorio, de un solo factor (concentración de NP-ZnO) con seis niveles de concentración 0, 250, 500, 1,000, 1,500 y 2,000 mg kg⁻¹ (C0, C1, C2, C3, C4 y C5) tres repeticiones (bloques) con 10 unidades experimentales cada uno (figura 3).

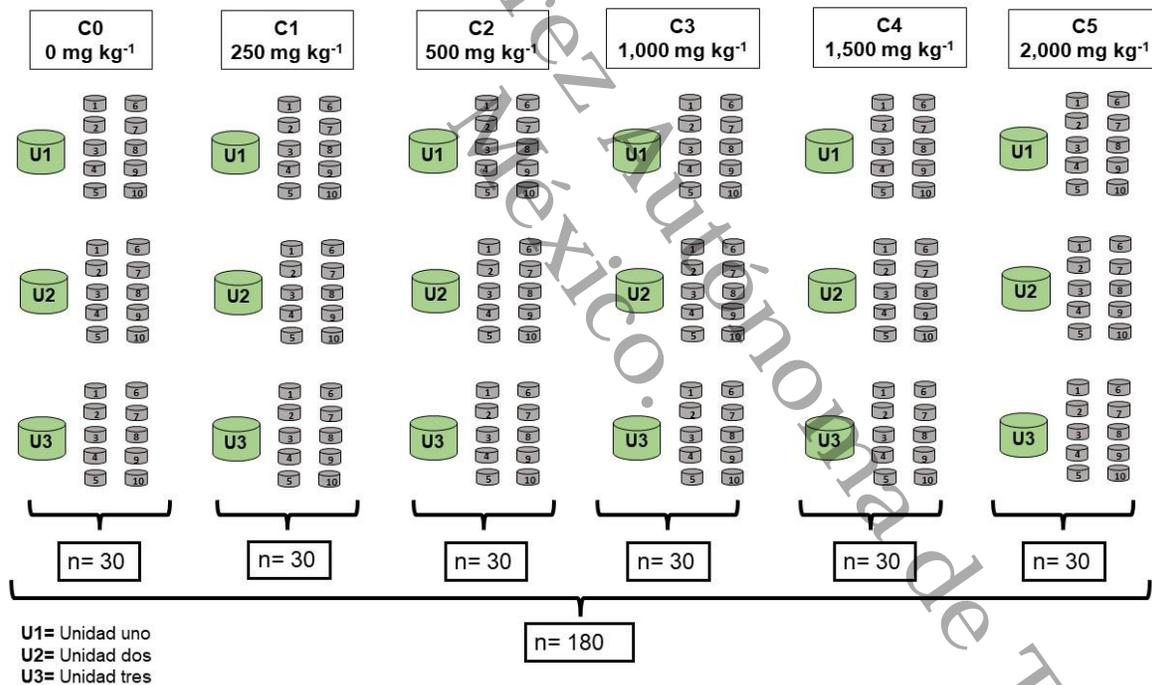


Figura 3. Esquema del diseño experimental donde se representa las concentraciones (C0, C1, C2, C3, C4 y C5) y las réplicas empleadas en el bioensayo.

Las unidades experimentales se prepararon en recipientes de vidrio, utilizando 2.2 kg del suelo arenosol; se agregaron las diferentes concentraciones de NP-ZnO, y se mezcló por 10 minutos. Al terminar, los recipientes se cubrieron con plástico film; y se resguardaron hasta realizar cada uno de los análisis.

6.4.1 Etapa 1: Preparación de las lombrices

Se seleccionaron 180 lombrices que estuvieran en la etapa adulta y con clitelo desarrollado, una vez elegidas se limpiaron y resguardaron en un recipiente de plástico para su depuración (evacuación) por tres horas (figura 4).



Figura 4. Defecación de las lombrices durante tres horas.

6.4.2 Etapa 2: Bioensayo

El bioensayo se ejecutó en frascos de vidrio con un volumen de 140 mL, se usaron 5 g de suelo para cada frasco, respectivamente, y se añadió agua hasta el 80% de su capacidad de campo. Pasado el tiempo de depuración, las lombrices se pesaron (figura 5) e introdujeron en los frascos con los cinco gramos de suelo. Los frascos se resguardaron en un espacio con temperatura controlada (figura 6).



Figura 5. Peso inicial de las lombrices.



Figura 6. Fase inicial del bioensayo para su posterior observación a las 48 horas.

6.4.3 Etapa 3: Observación de las lombrices a las 24 y 48 horas

Las observaciones se realizaron a las 24 y 48 horas, donde se observaron características como: movimiento, respuesta al estímulo, color, expulsión de líquido celómico y la mortalidad (figura 7). En la segunda observación, que se realizó a las 48 horas, añadiendo la observación del peso final a las lombrices (figura 8), los organismos sobrevivientes se regresaron a una charola para su recuperación.



Figura 7. Observación de las lombrices posterior a las 24 horas.



Figura 8. Peso final de las lombrices.

6.5 Análisis estadísticos

Se analizaron las variables físicas, químicas y biológicas con el software STATGRAPHICS CENTURION TM v 19.0. Los datos de las propiedades fisicoquímicas del suelo, peso inicial y peso final de las lombrices presentaron independencia, distribución normal y homocedasticidad, por lo que se realizaron análisis de varianza (ANDEVA) de una sola vía con un nivel de significancia del 95%, sin embargo, para el incremento de peso se calculó la LC20. Todo lo anterior fue para identificar el efecto de las concentraciones de nanopartículas de ZnO sobre el organismo de prueba.

7. RESULTADOS

7.1 Difracción de rayos X

El difractograma de las NP-ZnO que se observa en la figura 9, muestra picos significativos en los ángulos 2θ : 31.7° , 34.4° y 36.2° de los planos (100), (002) y (101) respectivamente, la afinidad e intensidad de los picos indica la cristalinidad del material. Por lo tanto, se presenta una estructura cristalina tipo wurzita hexagonal, que concuerda con los planos de reflexión dados por la tarjeta de referencia JCPDS #036-1451. Para el tamaño del cristalito se tomó el ancho medio del pico más alto (FWHM, por sus siglas en inglés), siendo el plano (101), el empleado en la ecuación de Debye-Scherrer, donde se obtuvo un tamaño de cristalito alrededor de los 43 nm.

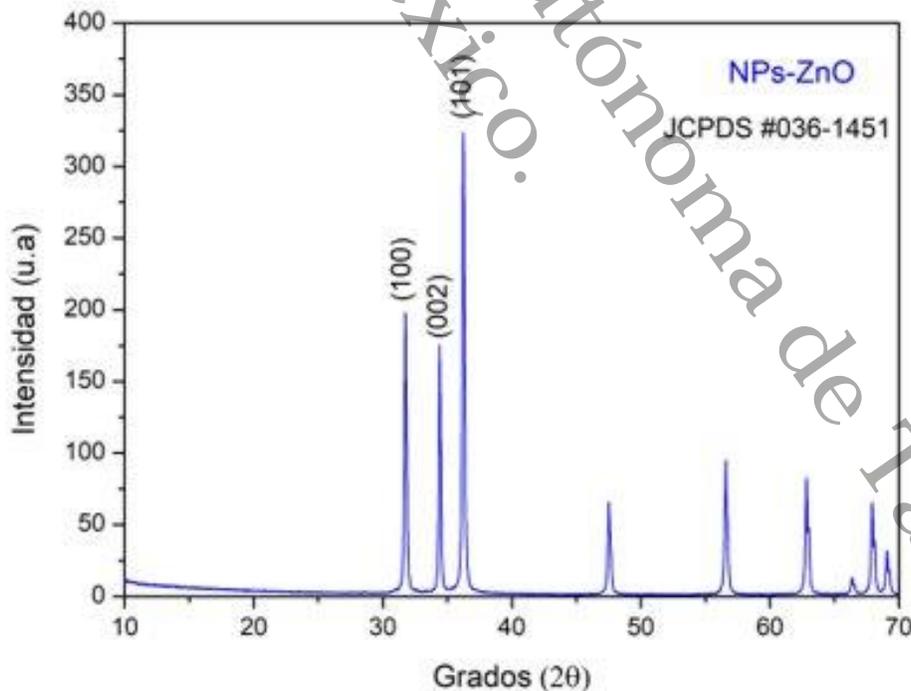


Figura 9. Difractograma de las nanopartículas de óxido de zinc.

7.2 Microscopía electrónica de barrido

La figura 10 muestra las micrografías de las nanopartículas de óxido de zinc, las cuales presentan forma de barras hexagonales con tamaño de longitud alrededor de los 37 a 190 nm y diámetro de 23 a 94 nm, altamente aglomeradas. De igual manera, se demuestra la pureza del material, ya que no se observó presencia de otro óxido metálico u otro material diferente al ZnO.

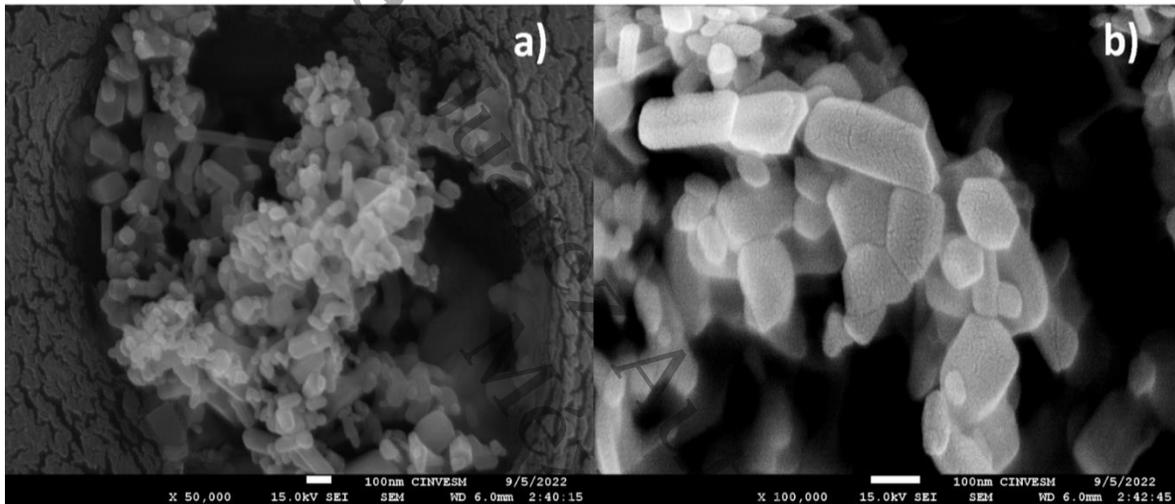


Figura 10. Micrografías FE-SEM que muestran nanopartículas ZnO en forma de barras hexagonales.

El cuadro 1 resume cada uno de los resultados obtenidos en la caracterización de las nanopartículas de ZnO por medio de las técnicas de DRX y FE-SEM. Así mismo, de la hoja de especificaciones dadas por el fabricante se presenta el valor en los cuales se encuentra aproximadamente el área superficial de estas nanopartículas (ver anexo 1).

Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas de las nanopartículas de ZnO.

| Nanopartícula | Tamaño de partícula (nm) | FWHM ₍₁₀₁₎ | Tamaño de cristalito (nm) | Área superficial (m ² g ⁻¹)* |
|---------------|---|-----------------------|---------------------------|---|
| ZnO | Longitud: 37 - 190 Diámetro: 23 - 94 | 0.1920 | 43 | 10 - 25 |

*El valor del área superficial determinado para las nanopartículas de ZnO, se encuentra establecido en las especificaciones dadas por el fabricante Sigma-Aldrich (Ver Anexo 1).

7.3 Análisis físicos y químicos del suelo

Los resultados que se muestran en el cuadro 2 indican los valores del promedio y desviación estándar que se obtuvieron de los análisis físicos y químicos del suelo arenoso sin dopaje (C0) y después de su dopaje con las nanopartículas de óxido de zinc (C1, C2, C3, C4 y C5).

El pH de la C0 fue de 4.67 (fuertemente ácido), a diferencia de la C1 a la C5 tienen un rango de 5.1 a 6.5 (moderadamente ácido), donde, la C0 posee el valor más bajo y la C4 el valor más alto, en la cual, se pudo notar un ligero cambio de pH con las NP-ZnO en el suelo. En la conductividad eléctrica se observó que desde la C0 a la C5 se sitúan en un intervalo $<1.0 \text{ dS m}^{-1}$, indicando una salinidad despreciable. Para la densidad aparente, los resultados de la C0 a la C5 indican que el suelo es arenoso por presentar valores mayores a 1.32 g cm^{-3} . La densidad real señala que los valores obtenidos son representativos de un suelo arenoso en las seis concentraciones, donde, la C1 tuvo el valor más bajo y la C2 el más alto. Respecto a la materia orgánica, todas las concentraciones tienen un porcentaje menor de 4 (muy bajo), por la cual, la C4 presenta el porcentaje más alto con 3.29 %. Para la capacidad de intercambio catiónico de la C0 son bajos, ya que tiene valor de $14.59 \text{ cmol (+) kg}^{-1}$ y de la C1 a la C5 son medios, se encuentran dentro de un intervalo de 15 a $19 \text{ cmol (+) kg}^{-1}$, de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000.

Cuadro 2. Concentraciones de los análisis físicos y químicos del suelo sin dopaje (C0) y después del dopaje con las NP-ZnO (C1, C2, C3, C4 y C5).

| Concentración (mg kg ⁻¹) | pH | Densidad aparente (g cm ⁻³) | Densidad real (g cm ⁻³) | Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹) | Capacidad de intercambio catiónico (cmol (+) kg ⁻¹) | Materia orgánica (%) |
|--------------------------------------|-------------|---|-------------------------------------|---|---|----------------------|
| C0 | 4.67 ± 0.60 | 1.34 ± 0.001 | 2.57 ± 0.07 | 0.12 ± 0.003 | 14.59 ± 0.30 | 3.04 ± 0.25 |
| C1 | 6.12 ± 0.80 | 1.34 ± 0.002 | 2.21 ± 0.36 | 0.11 ± 0.007 | 16.92 ± 0.18 | 2.86 ± 0.11 |
| C2 | 6.00 ± 0.50 | 1.34 ± 0.02 | 2.93 ± 0.08 | 0.11 ± 0.003 | 15.81 ± 0.61 | 3.19 ± 0.21 |
| C3 | 6.39 ± 0.07 | 1.32 ± 0.01 | 2.55 ± 0.14 | 0.12 ± 0.009 | 18.95 ± 2.02 | 2.94 ± 0.35 |
| C4 | 6.43 ± 0.05 | 1.34 ± 0.01 | 2.57 ± 0.32 | 0.13 ± 0.008 | 16.82 ± 1.53 | 3.29 ± 0.36 |
| C5 | 6.40 ± 0.21 | 1.36 ± 0.007 | 2.33 ± 0.09 | 0.13 ± 0.003 | 19.05 ± 1.15 | 2.83 ± 0.23 |

Valores representan la media aritmética (±) Desviación estándar, número de repeticiones (n=3).

7.4 Peso de las lombrices

El peso inicial de las lombrices no mostró diferencias significativas entre las seis concentraciones, con un nivel de confianza del 95%; es decir, los grupos son homogéneos, en un rango de 0.32 a 0.37 g (cuadro 3). Sin embargo, en el peso final se pudo observar que las lombrices perdieron peso a partir de la C4 (cuadro 3).

Cuadro 3. Peso inicial y peso final de las lombrices por concentración de las NP-ZnO.

| Concentración (mg kg ⁻¹) | Peso inicial (g) | Peso final (g) |
|--------------------------------------|------------------|----------------|
| C0 | 0.35 ± 0.05 | 0.43 ± 0.06 a |
| C1 | 0.36 ± 0.06 | 0.40 ± 0.09 b |
| C2 | 0.36 ± 0.06 | 0.41 ± 0.06 b |
| C3 | 0.32 ± 0.05 | 0.33 ± 0.05 c |
| C4 | 0.35 ± 0.06 | 0.34 ± 0.07 c |
| C5 | 0.37 ± 0.07 | 0.35 ± 0.06 c |

Valores representan la media aritmética, ± Desviación estándar. Las letras representan diferencias significativas por concentración n=30.

Se determinó el incremento de peso de las lombrices para cada concentración, donde fueron normalizados a 100% para el testigo (0 mg kg⁻¹ NP-ZnO).

Los valores se graficaron contra las concentraciones de NP-ZnO, la cual dio una línea de tendencia lineal, con un coeficiente de correlación de R= 0.9245, igual a una correlación de 90% entre la función y datos (Figura 11).

De acuerdo a la función, se calculó la concentración de NP-ZnO correspondiendo a un efecto negativo de 20% en este parámetro, donde, la Concentración Efectiva 20 (CE₂₀), siendo 1,526 mg Kg⁻¹.

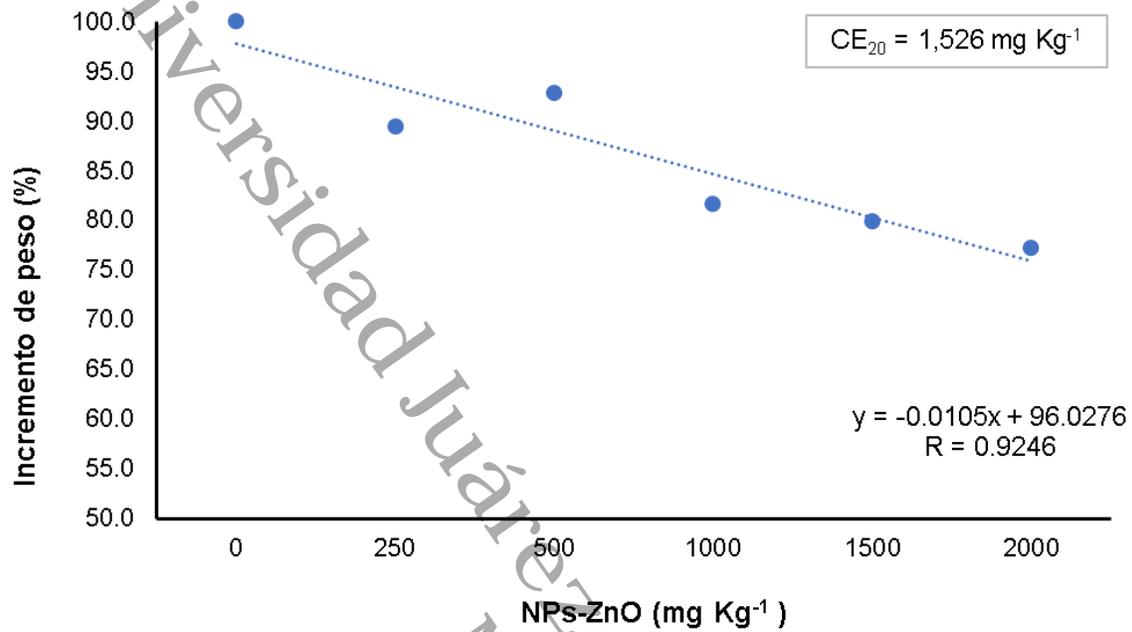


Figura 11. Porcentaje de incremento de peso de las lombrices, normalizado al testigo.

7.5 Mortalidad

La mortandad no se observó en la mayoría de los tratamientos, excepto en la C4, donde se tuvo un 6.66%, correspondiente a dos lombrices (figura 12).

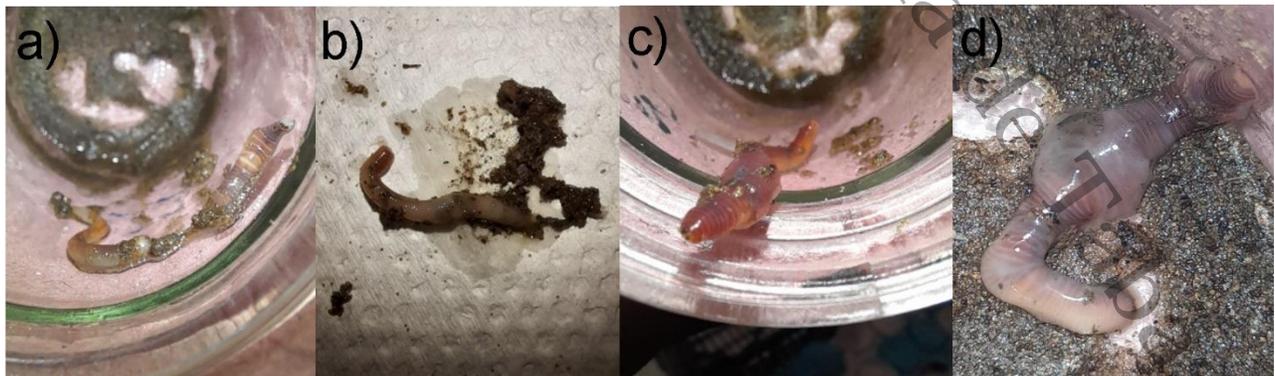


Figura 12. Mortalidad de las lombrices: a) Organismo con efecto de fragmentación a las 24 h, b) Organismos con efecto de fragmentación muerto a las 48 h, c) Organismos con clítelos inflamados a las 24 h, d) Organismos con clítelos destruidos a las 48 h.

En lo que respecta a los demás indicadores de toxicidad como es color, movimiento, estímulo y expulsión de líquido celómico no hubo efectos representativos por parte de las NP-ZnO a las lombrices.

En las 24 y 48 horas el movimiento de las lombrices se observó normal en todas las concentraciones. También tuvieron buena respuesta al estímulo al momento de punzarlas, sin embargo, solamente en la C5 se redujo un 20%. Las lombrices no presentaron expulsión de líquido celómico y se mostraron de color rojo a lo largo del experimento en todas las concentraciones.

México.

8. DISCUSIÓN

8.1 Caracterización de las NP-ZnO

De acuerdo con los resultados obtenidos de la caracterización de las NP-ZnO, estos fueron propios de la nanopartícula estudiada. Con el difractograma se pudo determinar su estructura hexagonal tipo wurtzita y la alta cristalinidad que posee este nanomaterial, por lo tanto, es posible mencionar que las nanopartículas de ZnO se encuentran nanoestructuradas. Dichos resultados, concuerdan con Hernández, (2016), quien obtuvo los mismos picos representativos del ZnO, confirmándose con ello las características del cristalito mencionadas. Por su parte, Galindo et al., (2022) obtuvieron las mismas características de cristalinidad y formas antes mencionadas, sin rastro de otro material, por lo que se consideran NP-ZnO puras. En algunos de los estudios consultados no se menciona si la cristalinidad en las nanopartículas de óxido de zinc podría afectar a las lombrices o las propiedades del suelo; sin embargo, se sabe que la toxicidad de las NP-ZnO en el agua se debe al metal solubilizado y no a su estructura cristalina (Hooper et al., 2011). En las imágenes del FE-SEM se pudo visualizar nanopartículas con una morfología hexagonal mayormente aglomeradas, con un tamaño de 23 a 94 nm de diámetro. Churilov et al., (2020) hacen referencia que las NP tienen efectos de acuerdo a su tamaño, concentraciones de aplicación y el tipo de suelo en que se encuentren, pero especialmente, las nanopartículas de óxidos con un tamaño de hasta 20 nm reaccionan solubilizándose, por lo cual, las lombrices de tierra están en riesgo por interactuar constantemente con el suelo, ya que con el tiempo las nanopartículas de óxido se acumulan, rompen procesos metabólicos, disminuyendo hormonas y enzimas (Churilov et al., 2020). Polischuk et al., (2022) mencionan que las NP-ZnO menor a 20 nm tuvieron efectos en el crecimiento y desarrollo de las lombrices, en un tiempo de exposición de más de ocho semanas. Por la cual las nanopartículas más pequeñas son las que influyen en los organismos con un tiempo de exposición largo.

8.2 Caracterización del suelo

Los resultados de la densidad aparente y densidad real de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000 mostraron que son característicos de un suelo Arenosol, debido a que la densidad aparente debe presentar valores mayores a 1.32 g cm^{-3} ; Palma et al., (2007) mencionan en el libro de suelos de Tabasco, que estos suelos cuentan con valores de 1.27 g cm^{-3} , lo que indica que el suelo utilizado efectivamente es arenosol, a como mencionan estos autores. De igual manera, la densidad real presenta un resultado propio de estos suelos, como lo menciona Villaseñor., (2016), que el rango de estos es 2.63 a 2.67 g cm^{-3} . También se obtuvo que ninguna de estas dos propiedades del suelo fue afectadas por las NP-ZnO.

La CIC de la concentración C0, es considerada baja, por su parte todas las concentraciones de C1-C5 con NP-ZnO tienen un rango medio de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000. Palma et al., (2007) reportan que un suelo arenosol comúnmente tiene $10.50 \text{ cmol (+) kg}^{-1}$, puesto que tiene porcentajes bajos de arcillas (Ruíz, 2003). Bueno y Fernández (2019), mencionan que la CIC está relacionada con la cantidad de arcilla que tenga un suelo, es por ello, que los suelos arenosoles tienen CIC baja, tal y como se obtuvo en este estudio. Para la materia orgánica (MO) los datos obtenidos son clasificados como “muy bajos” de acuerdo con lo establecido en la NOM-021-RECNAT-2000. Por su parte, Castillo (2000) y Bojórquez et al., (2008) mencionan que suelos Arenosoles siempre presentan porcentajes bajos de MO.

El pH de las muestras C1, C2, C3, C4 y C5 resultó moderadamente ácido, excepto la C0, el cual es considerado fuertemente ácido de acuerdo con NOM-021-RECNAT-2000. El dopaje del suelo con las nanopartículas de óxido de zinc aumentó significativamente el pH del suelo (ver cuadro 2). Resultados similares se observaron en el estudio de Tourinho et al., (2013), donde las NP-ZnO aumentaron el pH en los suelos ácidos y neutros debido a la capacidad amortiguadora que posee cada suelo, y de las nanopartículas de cambiar su carga dependiendo del tipo de pH, ya que si se encuentran en un medio ácido las nanopartículas tienden a disolverse; aunque no por completo, esto puede depender del tamaño de la NP, sin

embargo, Tourinho et al., (2012), menciona que las NP-ZnO se disuelven casi igual que el ZnO no nanométrico, donde tiene una disolución casi completa en el suelo, en un periodo de 9 meses, es por ello que el tiempo que estuvo en contacto el suelo con las nanopartículas de óxido de zinc fue muy poco para que hubiera un alto porcentaje de disolución. Por lo tanto, se asume que la acidez que presentaron las muestras de suelo disolvió algunas NP-ZnO, al entrar en contacto con la cantidad de agua que contenía el suelo, subiendo como resultado el pH, obteniendo así, niveles bajos de efectos sobre las lombrices (Lahive et al., 2023), ya que cuando tienden a disolverse por completo expulsan iones metálicos que pueden llegar a ser dañinos (Tourinho et al., 2012). Referente a las lombrices, Cruz (2005) menciona que estos organismos pueden desarrollarse en pH de entre 5 - 8, aunque un pH óptimo es de 6.5 - 7.5. Así mismo, Somarriba y Guzmán (2012) muestran en su manual de lombricultura que el mejor pH para un buen desarrollo de una lombriz es de 6.5 a 7.5 y el pH factible sería de 6.8 a 7.5. Por lo cual, se observa que el pH obtenido en la C0 no es el apropiado para el desarrollo de una lombriz, en cambio, en las concentraciones de la C1 a la C5 se acerca más al pH ideal. Permitiendo con esto asumir que las nanopartículas de ZnO coadyuvan a mejorar las condiciones del pH en un suelo de tipo arenosol, haciendo una mejora en la calidad del suelo y un ecosistema apto para el desarrollo de las lombrices.

En la conductividad eléctrica se mostraron resultados con efectos despreciables de salinidad (poca sal) según lo referido en la NOM-021-SEMARNAT-2000. Flores et al., (2013) como3ntan que en sus pruebas del suelo arenosol, también, presentó un nivel bajo de salinidad. Cruz (2005), indica en su trabajo que la lombriz podría tolerar un rango de conductividad eléctrica de 2.5 a 3.0 dS m⁻¹. Sin embargo, los datos mayores a 10 dS m⁻¹ provocarían su muerte. Se observa que los valores que se obtuvieron en esta investigación son muy bajos y no fueron afectados por las nanopartículas de óxido de zinc, lo cual no representa un riesgo para la supervivencia del organismo de prueba la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*).

8.3 Bioensayo

Los resultados obtenidos muestran que las NP-ZnO no tienen un efecto adverso significativo en las concentraciones bajas (C1 y C2), sin embargo, a partir de la C3, C4 y C5 respectivamente, se observó incremento de peso en más de la mitad de las lombrices, esto es similar a lo que observaron Mwaanga et al., (2017), manifestando que los resultados obtenidos con incremento de peso fueron causados por las dosis al aumentar las concentraciones. En el estudio que realizaron Polischuk et al., (2022), se demuestra que el incremento de peso de las lombrices empezó a partir de la sexta semana hasta un 60% con una concentración de 10 g t^{-1} , y se debe a que con el paso del tiempo los organismos acumulan estas NP en su sistema dañando su supervivencia. Entonces el incremento de peso se relaciona con el tiempo de exposición que tengan las lombrices en el suelo con nanopartículas de Zn, debido que estas empiezan a envejecer el suelo (Romero et al., 2016). Por la cual el incremento de peso que manifestaron las lombrices en este estudio fue por las nanopartículas de óxido de zinc.

Para el caso de la mortalidad, en las concentraciones C0, C1, C2, C3 y C5 no se presentó ninguna muerte, en cambio, en la C4 es la única concentración con 2 lombrices muertas; Mwaanga et al., (2017) mencionan en su estudio, que en ninguna de sus concentraciones de experimentación se presentó mortalidad, aun en la más alta fue de $4,000 \text{ mg kg}^{-1}$. De igual manera, Alves et al., (2019) en su investigación utilizaron NP-ZnO y reportan que no se vio afectada la supervivencia en ninguna concentración, al igual que este estudio, por lo que las dos muertes que se reportan no se consideran asociadas con las dosis de experimentación del suelo, siendo no representativo, pero si puede estar asociado a la homogenización que se hizo con las NP-ZnO y el suelo, aclarando que el tiempo de homogenización fue el mismo para todas las concentraciones, sin embargo, las dos muertes fueron de la misma repetición. Por ello, se puede decir que las nanopartículas de ZnO se encontraban más concentradas en esas 2 unidades experimentales de la misma repetición o bloque, por la cual tuvieron reacciones a las 24 horas, para luego causar su muerte a las 48 horas. En este estudio tampoco se presentaron porcentajes altos

de mortalidad, debido a que la toxicidad de las nanopartículas de óxido de zinc tiende a disminuir por el incremento del pH en el suelo. La poca solubilidad de las nanopartículas de ZnO hace que no se encuentren muy concentradas en los poros de agua del suelo teniendo bajos niveles de disponibilidad (Romero et al., 2016). Otra razón fue que el tiempo de exposición de las lombrices fue corto, sin embargo, con un tiempo de exposición más prolongado las NP-ZnO podrían tener mejor disolución y presentar efectos representativos, ya que se bioacumulan en el cuerpo de los organismos, afectándoles con el paso del tiempo (Polischuk et al., 2022). Esto último, lo comprueban en su estudio Romero et al., (2016), donde la supervivencia de las lombrices fue afectada con un tiempo de exposición de 28 días y dos concentraciones iguales a las que se utilizaron en este estudio (500 y 1,000 mg kg⁻¹) de NP-ZnO.

Para los parámetros de movimiento, expulsión de líquido celómico y color se registraron comportamientos normales de los organismos durante todo el bioensayo, sin embargo, en la concentración más alta (2000 mg kg⁻¹) las lombrices presentaron una repuesta al estímulo moderado, por lo tanto, se puede decir que las NP-ZnO no causaron un efecto representativo en ninguna de las concentraciones. Valerio et al., (2020) mencionan que en su experimento las lombrices tuvieron un buen color y movimiento normal hasta el final del experimento (60 días). Cabe aclarar que en las demás referencias consultadas no se encontró reporte sobre la evaluación de estas características como respuesta a la toxicidad, sin embargo, algunas investigaciones comentan que estos organismos llegan a presentar disminución en la reproducción (Alves et al., 2019), (Churilov et al., 2020).

9. CONCLUSIONES

En el experimento, las nanopartículas de óxido de zinc, no presentaron efectos negativos significativos en las propiedades del suelo, comparados con el suelo testigo. Sin embargo, hubo un cambio del pH y CIC, sin representar problemas a la estructura y propiedades del suelo, el cual, contribuyó a no causar toxicidad para las lombrices.

Para los organismos estudiados, la prueba de toxicidad aguda reporta efectos de un 20% en el incremento de peso, al igual que en el parámetro de respuesta al estímulo se presentó efecto en la concentración más alta (2,000 mg kg⁻¹), sin embargo; el movimiento, color y la presencia de líquido celómico se mostraron normales con respecto a la muestra testigo.

Por lo tanto, se puede decir que, en el presente experimento de toxicidad aguda usando la lombriz roja californiana como organismo de prueba, con diferentes concentraciones de NP-ZnO en suelos arenosos, presentaron efectos. Sin embargo, los efectos de las nanopartículas de óxido de zinc pueden ser más representativas en exposiciones con tiempo más prolongado, al igual que afectaciones en las propiedades del suelo.

10. RECOMENDACIONES

El uso de las nanopartículas de óxido es cada vez alto, al igual que su disposición en los suelos, es por ello que para las incertidumbres que se tienen sobre el efecto que las NP-ZnO puedan causar en el suelo y en los organismos, se recomienda volver a probar concentraciones a partir de $1,000 \text{ mg kg}^{-1}$ en un bioensayo con un tiempo de exposición más prolongado al que se probó en este estudio.

Se recomienda hacer pruebas después del bioensayo, para conocer si las nanopartículas de óxido de zinc afectan las propiedades físicas y químicas del suelo con un tiempo de exposición más prolongado y si esto puede llegar afectar a los organismos o plantas. También se recomienda probar en otros tipos de suelos del trópico con propiedades diferentes.

11. LITERATURA CITADA

Aguilera, H. N. y Domínguez, R. V. I. (1972). Metodología de análisis físico-químicos de suelos. Universidad Nacional Autónoma de México-Facultad de Ciencias Biológicas, México.

Ahire, S. A., Bachhav, A. A., Pawar, T. B., Jagdale, B. S., Patil, A. V. y Koli, P. B. (2022). The Augmentation of nanotechnology era: A concise review on fundamental concepts of nanotechnology and applications in material science and technology.

Results in Chemistry, 4, 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100633>

Ahmed, H. M., Roy, A., Wahab, M., Ahmed, M., Othman-Qadir, G., Elesawy, B. H., Khandaker, M. U., Islam, M. N. y Emran, T. Bin. (2021). Applications of nanomaterials in agrifood and pharmaceutical industry. *Journal of Nanomaterials*, 10. <https://doi.org/10.1155/2021/1472096>

Albert, L., Ringo, L., Schlicke, M., Lawless, S. y Stokes, S. (2020). Nanoparticles: Pathways into the environment and effect on biological systems. *World Environmental and Water Resources Congress 2020* (pp. 314-323). <https://doi.org/10.1061/9780784482964.031>

Ali, A., Chiang, Y. W., y Santos, R. M. (2022). X-Ray diffraction techniques for mineral characterization: A review for engineers of the fundamentals, applications, and research directions. *Minerals*, 12(2), 205. <https://doi.org/10.3390/min12020205>

Alves, M. L., Olivera, F. L. C. I., Noguera, P., Junior, O. A., Fiori, M. A., Baretta, D. y Riviera, D. M. B. C. (2019). Influencia de las nanopartículas de ZnO y de un ZnO No-Nano en la supervivencia y reproducción de lombrices de tierra y colémbolos en suelos naturales tropicales. *Revista Brasileira de Ciencia Do Solo*, 43, 1-16. <https://doi.org/10.1590/18069657rbc20180133>

Allouche, J. (2013). Synthesis of Organic and Bioorganic Nanoparticles: An Overview of the Preparation Methods. Brayner, Fiévet y Coradin, *Nanomaterials: A danger or a promise? A Chemical and Biological Perspective* (pp. 27-74). Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-1-4471-4213-3>

Ameen, F., Alsamhary, K., Alabdullatif, J. A. y ALNadhari, S. (2021). A review on metal-based nanoparticles and their toxicity to beneficial soil bacteria and fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 213, 112027, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112027>

Beavers, A. H., y Stephen, I. (1958). Some features of the distribution of plant-opal in Illinois soils. *Soil Science*, 86(1), 1-5.

Beegam, A., Prasad, P., Jiya, J., Oliveira, M., Costa, F. G., Soares, A. M. V. M., Gonçalves, P. P., Trindade, T., Kalarikkal, N., Thomas, S. y Pereira, M. de L. (2016). Environmental fate of zinc oxide nanoparticles: Risks and benefits. *Toxicology-New Aspects to This Scientific Conundrum*, 33, 82-112. <http://dx.doi.org/10.5772/65266>

Bignell, D. E., Constantino, R., Csuzdi, C., Karyanto, A., Konaté, S., Louzada, J., Susilo, F., Ebagnerin, T. J. y Zanetti, R. (2012). Macrofauna. *Manual de biología de suelos tropicales* (pp. 91–148). Routledge https://www.researchgate.net/profile/Csaba-Csuzdi/publication/258763783_Macrofauna/links/55a9eed708aea9946721e688/Macrofauna.pdf

Bojórquez, I., Hernández, A., García, D., Nájera, O., Flores, F., Madueño, A. y Bugarín, R. (2008). Características de los suelos de las barras paralelas, playas y dunas de la llanura costera norte del estado de Nayarit, México. *Cultivos Tropicales*, 29(1), 37-42. www.redalyc.org/articulo.oa?id=193221581006

Bosé, P. (2022). *nanopartículas en suelo; ¿Cual es el riesgo?* [Archivo PDF]. [https://www.azonano.com/articulo.aspx?ArticuloID=6046#:~:text=Nanopar ti cles ar e non- degr adabl e or ,nanopar ti cles can al so i nduce toxi city](https://www.azonano.com/articulo.aspx?ArticuloID=6046#:~:text=Nanopartículas ar e non- degradabl e or ,nanopar ti cles can al so i nduce toxi city)

Bouguerra, S., Gavina, A., Ksibi, M., da Graça Rasteiro, M., Rocha, S. T. y Pereira, R. (2016). Ecotoxicity of titanium silicon oxide (TiSiO₄) nanomaterial for terrestrial plants and soil invertebrate species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129, 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.038>

Bueno, B. R. y Fernández, L. J. C. (2019). La capacidad de intercambio catiónico

del suelo: una bóveda de nutrición clave en la producción de alimentos. *Ámbito Investigativo*, 4(1), 7-12. <https://ciencia.lasalle.edu.co/ai>

Bundschuh, M., Filser, J., Lüderwald, S., McKee, M. S., Metreveli, G., Schaumann, G. E., Schulz, R. y Wagner, S. (2018). Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to?. *Environmental Sciences Europe*, 30(1), 1-17. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6>

Cáceres, W. M. I. (2018). *Efectos tóxicos de nanopartículas de óxidos de hierro en Eisenia andrei y sus implicancias ecotoxicológicas* [Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires]. https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n6486_CaceresWenzel.pdf

Calvillo, A. A. K. (2019). *Evaluación de la viabilidad celular y la actividad antimicrobiana de nanopartículas de cobre* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de San Luis Potosí]. <https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/7989>

Carvajal, R. R. (1997). Propiedades físicas. Naranjo (1 ed.), *Propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos* (pp. 9-11). Convenio Fenalce, Sena, Sac. <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6636/1/083.pdf>

Castillo, T. R. (2000). *Características de los suelos de “La posta zootecnica Torreon del Molino” y los factores limitantes agroproductos para los pastos: Un caso de estudio para el Estado de Veracruz*. [Tesis de Maestría, Universidad Veracruzana]. <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/40170/1/cruzosorioedgar.pdf>

Churilov, D. G., Polischuk, S. D., Churilov, G. I., Churilova, V. V. y Byshova, D. N. (2020). Investigation of the long-term toxic effect of nanoparticles of different physical-chemical characteristics. *Agronomy Research*, 18(3), 1973–1991. <https://doi.org/10.15159/AR.20.186>

Collins, D., Luxton, T., Kumar, N., Shah, S., Walker, V. K. y Shah, V. (2012). Assessing the impact of copper and zinc oxide nanoparticles on soil: A field study.

PLoS ONE, 7(8), 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042663>

Cruz, F. M. (2005). *Reproducción de la lombriz roja (Eisenia fetida) en sustratos orgánicos pecuarios*. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Agraria]. [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/46432/K58594 Cruz Flores%2C Minervo..pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/46432/K58594%20Cruz%20Flores%2C%20Minervo..pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Czyżowska, A. y Barbasz, A. (2020). A review: zinc oxide nanoparticles—friends or enemies? *International Journal of Environmental Health Research*, 32(4), 885-901. <https://doi.org/10.1080/09603123.2020.1805415>

Dean, W. E. (1974). Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition; comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Research*, 44(1), 242-248. <https://doi.org/10.1306/74d729d2-2b21-11d7-8648000102c1865d>

Díaz del Castillo, R. F. (2012). *Introducción a los nanomateriales*[Archivo PDF]. [http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/introduccion a los nanomateriales.pdf](http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf)

Domínguez, J. y Pérez, L. M. (2010). *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) y *Eisenia andrei* Bouché, 1972 son dos especies diferentes de lombrices de tierra. *Acta Zoológica Mexicana*, 26(2), 321–331. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0065-17372010000500024&script=sci_abstract#:~:text=Eisenia andrei \(Savigny%2C 1826\),ecotoxicología%2C fisiología y estudios genéticos.](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0065-17372010000500024&script=sci_abstract#:~:text=Eisenia andrei (Savigny%2C 1826),ecotoxicología%2C fisiología y estudios genéticos.)

Domínguez, L. Y., Beiro, C. O., Peláez, R. R., Díaz, G. A., Lóriga, L. E. y Fraga, Á. R. (2017). Ecotoxicidad de nanopartículas metálicas y superparamagnéticas de óxido de hierro en dos especies. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 46(2), 102-112. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572017000200002

Domínguez, R. V. I., Adams, R. H., Sánchez, M. F., Pascual, C, J. D. L. S., y Gómez, C, R. (2020). Soil contact bioassay for rapid determination of acute toxicity with *Eisenia foetida*. *Heliyon*, 6(1). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03131>

Esquivel, L. y Cancino, M. (2017). *Estudio de las propiedades antimicrobianas de nanopartículas de ZnO y ZnO/Ag sintetizadas por el método de reacción en microemulsión* [Tesis de Maestría, Centro de Investigación en Materiales Avanzados S. C.]. [https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2317/1/Tesis M. Luis Esquivel%2C María Cancino.pdf](https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/2317/1/Tesis%20M.%20Luis%20Esquivel%20María%20Cancino.pdf)

FAO. (n.d.). *¿Cuales son las propiedades biológicas y químicas del suelo?* [Archivo PDF]. <https://www.fao.org/3/ca7165es/ca7165es.pdf>

FAO. (2008). *Base referencial mundial del recurso suelo* [Archivo PDF]. <http://siglo.inafed.gob.mx/enciclopedia/EMM30veracruz/municipios/30044a.html%0Ahttp://www.fao.org/3/a-a0510s.pdf>

FAO. (2015). *Suelos y biodiversidad: Los suelos albergan una cuarta parte de la biodiversidad de nuestro planeta* [Archivo PDF]. <https://sinia.minam.gob.pe/documentos/suelos-biodiversidad-0>

Fertilab. (2019). *Propiedades fisicoquímicas del suelo y el crecimiento de las plantas* [Archivo PDF]. <https://www.fertilab.com.mx/Sitio/notas/NTF-19-012-Propiedades-fisicoquimicas-del-suelo-y-el-crecimiento-de-las-plantas.pdf>

Findik, F. (2021). Nanomaterials and their Applications. *Periodicals of Engineering and Natural Sciences*, 9(3), 62-75. <https://doi.org/10.21533/pen.v9i3.1837>

Flores, M. J. P., Valero, C. C., Osuna, Á. P., Corral, D. B., Shukla, K. M. y Salazar, S. E. (2013). Textura del suelo y tipo de agua de riego en la disponibilidad de fósforo de estiércol bovino. *Tierra Latinoamericana*, 31(3), 211-220. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792013000400211

Foladori, G. y Invernizzi, N. (2012). Las nanotecnologías en América Latina y el Caribe. *Implicaciones sociales y ambientales del desarrollo de las nanotecnologías en América Latina y el Caribe*. (p. 44). ReLANS. (Red Latinoamericana de Nanotecnología y Sociedad). Zacatecas, México y Curitiba, Brasil. IPEN. https://ipen.org/sites/default/files/documents/ipen_nano_latin_amer-es.pdf

Frejo, M., Díaz, M., Lobo, M., García, J. y Capó, M. (2011). Nanotoxicología ambiental: retos actuales. *Medicina balear*, 26(2), 36-46. <https://core.ac.uk/download/pdf/32993984.pdf>

Fuentes, Y. J. L. (2010). *La crianza de la lombriz roja*[Archivo PDF]. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1987_01.pdf

Fytianos, G., Rahdar, A. y Kyzas, G. Z. (2020). Nanomaterials in cosmetics: Recent updates. *Nanomaterials*, 10(5), 979. <https://doi.org/10.3390/nano10050979>

Galindo, G. A. P., Fortis, H. M., De La Rosa, R. D., Verónica, C., Zermeño, G. H. y Galindo, G. M. (2022). Síntesis química de nanopartículas de óxido de zinc y su evaluación en plántulas de lactuca sativa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13(28), 299–308. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i28.3284>

García, A. G. (2015). *Las lombrices y la agricultura*[Archivo PDF]. https://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/agec_562_lombrices_y_la_agricultura2.pdf

González, P. A. y Arroyo, S. G. (2022). Effects and characterization of airborne nanoparticles (CuO, ZnO-NPs) in plants. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 38, 145-164. <https://doi.org/10.20937/rica.54303>

Gupta, G. S. y Dhawan, A. (2022). Fate and potential hazards of nanoparticles in the environment. *Nanoparticle Therapeutics: Production Technologies, Types of Nanoparticles, and Regulatory Aspects* (pp. 581–602). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820757-4.00004-1>

Hernández, C. M. A. (2016). *Síntesis de ZnO impurificado con CuO para aplicaciones fotocatalíticas* [Tesis de Maestría, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco]. https://ri.ujat.mx/bitstream/20.500.12107/3107/1/Tesis_Marisela_Alejandra_Hernandez_Carrillo.pdf

Hooper, H. L., Jurkschat, K., Morgan, A. J., Bailey, J., Lawlor, A. J., Spurgeon, D. J. y Svendsen, C. (2011). Comparative chronic toxicity of nanoparticulate and ionic zinc to the earthworm *Eisenia veneta* in a soil matrix. *Environment International*,

37(6), 1111–1117. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.019>

Hu, C. W., Li, M., Cui, Y. B., Li, D. S., Chen, J. y Yang, L. Y. (2010). Toxicological effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil on earthworm *Eisenia fetida*. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(4), 586–591. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.12.007>

Ipohorski, M. y Bozzano, P. (2013). Microscopía electrónica de barrido en la caracterización de materiales. *Ciencia e Investigación*, 63(3), 43–53. <http://aargentinapciencias.org/wp-content/uploads/2018/01/RevistasCel/tomo63-3/5-microscopia-electronica-de-barrido-en-la-caracterizacion-de-materiales-cei63-3-2013-5.pdf>

Jan, N., Majeed, N., Ahmad, M., Lone, W. A., y John, R. (2022). Nano-pollution: Why it should worry us. *Chemosphere*, 302, 134–746. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134746>

Jackson, M. (1976). Análisis químico de suelos. Ed. Omega. Barcelona. 662 pp.

Jiménez, J., Decaëns, T., Thomas, R. J., y Lavelle, P. (2003). La macrofauna del suelo: Un recurso natural aprovechable pero poco conocido. *El Arado Natural* (pp. 1–17). http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos_ciat/tsbf/pdf/arado_natural_cap1.pdf

Keerthana, S. y Kumar, A. (2020). Potential risks and benefits of zinc oxide nanoparticles: a systematic review. *Critical Reviews in Toxicology*, 50(1), 47–71. <https://doi.org/10.1080/10408444.2020.1726282>

Keller, A. A., McFerran, S., Lazareva, A., y Suh, S. (2013). Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *Journal of nanoparticle research*, 15, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11051.013.1692.4>

Kwak, J. Il., y An, Y. J. (2015). Ecotoxicological effects of nanomaterials on earthworms: A review. *Human and Ecological Risk Assessment:an International Journal*, 21(6), 1566–1575. <https://doi.org/10.1080/10807039.2014.960302>

Lahive, E., Matzke, M., Svendsen, C., Spurgeon, D. J., Pouran, H., Zhang, H., Lawlor, A., Glória Pereira, M. y Lofts, S. (2023). Soil properties influence the toxicity

and availability of Zn from ZnO nanoparticles to earthworms. *Environmental Pollution*, 319, 10. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120907>

La Manna, L., Buduba, C., Alonso, V., Davel, M., Puentes, C., y Irisarri, J. (2007). Comparación de métodos analíticos para la determinación de materia orgánica en suelos de la región Andino-Patagónica: efectos de la vegetación y el tipo de suelo. *Ciencia del suelo*, 25(2), 179-188. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1850-20672007000200009&script=sci_arttext

Lee, W. M., Kim, S. W., Kwak, J. Il, Nam, S. H., Shin, Y. J. y An, Y. J. (2010). Research trends of ecotoxicity of nanoparticles in soil environment. *Toxicological Research*, 26(4), 253-259. <https://doi.org/10.5487/TR.2010.26.4.253>

Liu, L., Nian, H. y Lian, T. (2022). Plants and rhizospheric environment: Affected by zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs). A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 185, 91-100. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.05.032>

López-de la Mora, D. A. (2019). Identificación de posibles riesgos toxicológicos y sus regulaciones sanitarias del uso de nanomateriales en productos de consumo humano en México. *Revista Médica MD*, 10(3), 221-228. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2018/md182t.pdf>

Martínez, M. S., Rodríguez, T. J., Míguez, S. M., Soler, F. y Pérez, L. M. (2019). Desarrollo del ensayo de toxicidad estandarizado OECD n° 207 en lombriz de tierra expuesta al pesticida organofosforado Dimetoato. *Revista de Toxicología*, 36(2), 106-110. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91967023003>

Mendoza, L. E. (2018). *Evaluar el efecto de tres dosis de sustratos en la alimentación de la lombriz roja californiana (Eisenia foetida) con estiércol bovino y aserrín descompuesto en sapecho alto beni* [Tesis de Licenciatura, Universidad Mayor de San Andrés]. <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/17206/T-2532.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Mohammadpour, R., Dobrovolskaia, M. A., Cheney, D. L., Greish, K. F. y Ghandehari, H. (2019). Subchronic and chronic toxicity evaluation of inorganic nanoparticles for delivery applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 144, 112-132. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.07.006>

Monirul, H. T. M., Baroi, A., Rana, J., Islam, S., Jahan, R., Shipon, M. M. y Asaduzzaman, M. (2016). Potential Applications of Nanotechnology in Agriculture: A Smart Tool for Sustainable Agriculture, *Agricultural Development in Asia - Potential Use of Nano-Materials and Nano-Technology* (pp. 2-14). IntechOpen <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.101142>

Mukhopadhyay, S. S. (2014). Nanotechnology in agriculture: Prospects and constraints. *Nanotechnology, Science and Applications*, 7, 63–71. <https://doi.org/10.2147/NSA.S39409>

Muñoz, I. D. J., Soler, A. A., López, G. F. y Hernández, M. M. (2013). Edafología manual de métodos de análisis de suelos. *Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores de Iztapalapa. México Distrito Federal* (pp.23-25).

Mwaanga, P., Mbulwe, S. y Shumbula, P. (2017). Investigating the Toxicity of Cu, CuO and ZnO Nanoparticles on Earthworms in Urban Soils. *Journal of Pollution Effects & Control*, 5(3), 9. <https://doi.org/10.4176/2375-4397.1000195>

Nagar, V., Singh, T., Tiwari, Y., Aseri, V., Pandit, P. P., Chopade, R. L., Lodha, P. y Awasthi, G. (2022). ZnO Nanoparticles: Exposure, toxicity mechanism and assessment. *Materials Today: Proceedings*, 69(1), 23-46. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.09.001>

OECD, T. N. (1984). 207: Earthworm, acute toxicity tests. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section, 2*.

Ortíz, G. D., Gregorio, J. y Barois, I. (2021). ¿Las lombrices de tierra tienen potencial biotecnológico?. *Elementos* 123, 71-77. <https://www.researchgate.net/publication/352846821>

Ortiz, G. D. y Ortiz, C. Á. I. (2018). Belleza extravagante y funcionalidad: Lombrices de Tierra. *CONABIO. Biodiversitas*, 138, 12–16. http://www.earthgonomic.com/biblioteca/Taller_Lombricomposta/Belleza_extravagante_y_funcionalidad_lombrices_de_tierra.pdf

Palma, L. D. J., Cisneros, D. J., Moreno, C. E. y Rincón, R. J. A. (2007). Arenosoles (AR), *Suelos de Tabasco: su uso y manejo sustentable (1 ed.)*. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. ISPROTAB-FUPROTAB. (pp. 111-115) https://www.researchgate.net/publication/293958380_Suelos_de_Tabasco_Su_Uso_y_Manejo_Sustentable

Pereira, M. C. A., Maycotte, M. C. C., Restrepo, E. B., Mauro, F., Calle, M. A., Esther, V. J. M., Marín, S. G. L., Álvarez, M. M. L. y Portela, G. H. (2011). las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo, *Edafología 1 (1 ed.)*. <https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/4776/edafologia.pdf>

Pereira, C. (2015). *Semana de la Ciencia y Tecnología Jornada de Puertas Abiertas* [Archivo PDF]. <http://inia.uy/Documentos/Públicos/INIA Tacuarembó/2015/El Suelo 20 de mayo.pdf>

Pérez, H. H., Fernández, L. F., Huerta, L. E., Mendoza, V. J., Alvarez, S. J. D., Hernández, G. E., Valle, M. J. F. y Pérez, S. M. (2020). The first evidence of accumulation and avoidance behavior of macroinvertebrates in a forest soil spiked with human-made iron nanoparticles: A field experiment. *Heliyon*, 6(9), 12. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04860>

Pérez, R. M. C., Laines, C. J. R., Ávila, L. I. y Villegas, C. V. M. (2015). Recuperación de suelo tipo arenosol a través de vermicompostaje utilizando como sustrato cascara de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Asociación Mexicana de Ingeniería Ciencia y Gestión Ambiental*, 4. <http://www.amica.com.mx/issn/archivos/150.pdf>

Pineda, R. A. M. (2017). *Estudio comparativo de las propiedades físicas de nanopulvos de óxido de zinc sintetizados mediante precipitación homogénea y microemulsiones* [Tesis de Doctorado, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional].

<https://repositorio.cinvestav.mx/handle/cinvestav/2880>

Polischuk, S. D., Churilov, G. I., Churilov, D. G., Churilova, V. V. y Fadkin, G. N. (2022). Reasons for different environmental effects of technogenic nanoparticles. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1010(1), 012039. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1010/1/012039>

Porta, C. J., López, A. R. M., y Poch, C. R. M. (2013). *Edafología: uso y protección de suelos*. Ediciones Mundi-Prensa. (pp. 242).

Rajput, V. D., Minkina, T. M., Behal, A., Sushkova, S. N., Mandzhieva, S., Singh, R., Gorovtsov, A., Tsitsuashvili, V. S., Purvis, W. O., Ghazaryan, K. A. y Movsesyan, H. S. (2018). Effects of zinc-oxide nanoparticles on soil, plants, animals and soil organisms: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 9, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2017.12.006>

Ríos, S. Y. (2003). Importancia de las lombrices en la agricultura. *Sistemas Integrados de Producción Con No Rumiantes*, 47–52. http://www.avpa.ula.ve/eventos/viii_encuentro_monogastricos/sistemas_integrados/conferencia-8.pdf

Rivera, A. M., Calderon, R. A., Felix, M. V. de J., Vargas, E. E. y Gaytan, R. M. (2018). Producción in vitro de cocones de la especie *Eisenia foetida* en diferentes sustratos. *Revista de Sistemas Experimentales*, 5(14), 7–11. https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Sistemas_Experimentales/vol5num14/Revista_de_Sistemas_Experimentales_V5_N14_2.pdf

Rodriguez, L. (2011). *Conservación de los recursos naturales para una Agricultura sostenible* [Archivo PDF]. https://www.academia.edu/13895804/Conservaci%C3%B3n_de_los_recursos_naturales_para_una_Agricultura_sostenible

Romero, F. A., Lofts, S., Martín, P. F. J. y van Gestel, C. A. M. (2016). Effects of aging and soil properties on zinc oxide nanoparticle availability and its ecotoxicological effects to the earthworm *Eisenia andrei*. *Environmental Toxicology*

and Chemistry, 36(1), 137–146. <https://doi.org/10.1002/etc.3512>

Ruíz, S. U. (2003). *Clasificación de texturas y parámetros mecánicos de suelos*. [Archivo PDF]. <http://www.clinicasantamaria.cl/diabetes/Prediabetes.htm><http://aplicacionesbiblioteca.udea.edu.co:2056/servlet/articulo?codigo=4728482><http://bdigital.unal.edu.co/53252/97/clasificaciondesuelos.pdf><https://www.udc.es/dep/dtcon/estructuras/ETSAC/Pro>

Sajid, M. (2022). Nanomaterials: types, properties, recent advances, and toxicity concerns. *Current Opinion in Environmental Science and Health*, 25, 100319. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2021.100319>

Samrot, A. V, Burman, U., Padmanaban, S., Yamini, P. y Rabel, A. M. (2018). A study on toxicity of chemically synthesised silver nanoparticle on *Eudrilus eugeniae*. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 10(3), 162-167. <https://doi.org/10.1007/s13530-018-0360-6>

Sarracino, O. A. L. (2015). *Residuo de la purificación del biodiesel (en base seca) y su potencial como mejorador de suelo* [Tesis de Licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco].

Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2002). Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de los suelos. Estudios, muestreo y analisis. NOM-021-RECNAT-2000. <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255.pdf>

Schollenberger, C.J. y Simon, R. H. (1945). Determination of Exchange capacity and exchangeable bases in soil-ammonium acetate method. *Soil Science*, 59, 13-24.

Sheteiwiy, M. S., Shaghaleh, H., Hamoud, Y. A., Holford, P., Shao, H., Qi, W., Hashmi, M. Z. and Wu, T. (2021). Zinc oxide nanoparticles: potential effects on soil properties, crop production, food processing, and food quality. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(28), 36942–36966. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14542-w>

Singh, V., Yadav, P. y Mishra, V. (2021). Recent advances on classification, properties, synthesis, and characterization of nanomaterials. *Green Synthesis of Nanomaterials for Bioenergy Applications*, 83-97. <https://doi.org/10.1002/9781119576785.ch3>

Somarriba, R. R. J. y Guzmán, G. F. (2012). *Guía de lombricultura*[Archivo PDF]. <https://repositorio.una.edu.ni/2409/1/nf04s693.pdf>

Staff, R. (2015). Nanotecnología, nanopartículas y toxicidad. *Revista Enfermería del Trabajo*, 5(1), 21-27. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5213017>

Świątek, Z. M., van Gestel, C. A. M. y Bednarska, A. J. (2017). Toxicokinetics of zinc-oxide nanoparticles and zinc ions in the earthworm *Eisenia andrei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 143, 151-158. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.027>

Tapia, C. T., Celia, S., Pinto Hernández, C. A., Candre Iguedama, A., Asencio, C., Cuellar C, R. y Waldez, F. (2019). Caracterización de la macrofauna del suelo en fragmentos forestales en el municipio de Leticia, Amazonía colombiana. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 11(1), 690. <https://doi.org/10.24188/recia.v11.n1.2019.690>

Tourinho, P. S., van Gestel, C. A. ., Lofts, S., Soares, A. M. V. ., y Loureiro, S. (2013). Influence of soil pH on the toxicity of zinc oxide nanoparticles to the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(12), 2808-2815. <https://doi.org/10.1002/etc.2369>

Tourinho, P. S., van Gestel, C. A. M., Lofts, S., Svendsen, C., Soares, A. M. V. M., y Loureiro, S. (2012). Metal-based nanoparticles in soil: Fate, behavior, and effects on soil invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(8), 1679–1692. <https://doi.org/10.1002/etc.1880>

Uribe, L. M. C., Alvarez, L. M. A., Hidalgo, M. C., López, G. R., Quintana, O, P., Oros, R, S., Uribe, L. S. A. y Acosta, J. (2019). Synthesis and characterization of ZnO-ZrO₂ nanocomposites for photocatalytic degradation and mineralization of

phenol. *Journal of Nanomaterials*, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2019/1015876>

Vaccaro, S. M. (2019). *¿Por Qué Es Importante Conocer Las Propiedades Físicas Del Suelo?*[Archivo PDF]. www.lag-laboratorio.com.ar

Valerio, R. M. F., Trejo, T. L. I., Aguilar, G. M. Á., Medina, P. G., Zúñiga, E. J. C., Ortegón, P. A. y Fernández, L. F. (2020). Effects of ZnO, TiO₂ or Fe₂O₃ nanoparticles on the body mass, reproduction, and survival of *Eisenia fetida*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 29(3), 2383–2394. <https://doi.org/10.15244/pjoes/100668>

Van Konijnenburg, A. (2006). *Agricultura orgánica. El suelo: Sus componentes físicos* [Archivo PDF]. [https://www.ciaorganico.net/documypublic/498_script-tmp-inta_material_didactico_nro_01_\(1\).pdf](https://www.ciaorganico.net/documypublic/498_script-tmp-inta_material_didactico_nro_01_(1).pdf)

Vázquez, F. M. (2014). *Arenosoles*[Archivo PDF].

Villamor, S. E. J. (2020). *Impacto medioambiental del uso de nanopartículas*[Archivo PDF].. <https://idus.us.es/handle/11441/103533>

Villaseñor, O. D. (2016). Fundamentos y procedimientos para análisis físicos y morfológicos del suelo. *Universidad Técnica de Machala: Machala, Ecuador* (1st ed.).

[http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10690/1/FUNDAMENTOS Y PROCEDIMIENTOS.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10690/1/FUNDAMENTOS_Y_PROCEDIMIENTOS.pdf)

Yang, W., Wang, L., Mettenbrink, E. M., Deangelis, P. L. y Wilhelm, S. (2021). Nanoparticle toxicology. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 61, 269-289. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-032320-110338>

Yu, Y., Li, X., Yang, G., Wang, Y., Wang, X., Cai, L. y Liu, X. (2019). Joint toxic effects of cadmium and four pesticides on the earthworm (*Eisenia fetida*). *Chemosphere*, 227, 489-495. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.064>

Zambrano, Z. A. A. (2021). *Evaluación de la macrofauna del suelo en plátano en las zonas de Santo Domingo y Esmeraldas* [Tesis de Licenciatura, Universidad de las Fuerzas Armadas]. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/25864/1/T->

ESPESD-003121.pdf

Zerbino, S. y Altier, N. (2006). La biodiversidad del suelo: su importancia para el funcionamiento de los ecosistemas[Archivo PDF].
http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/ara/ara_186.pdf

ANEXOS

En los siguientes anexos se presenta la información correspondiente a las nanopartículas de ZnO adquiridas en Sigma-Aldrich, donde se detallan información relacionada a su caracterización físico y química y a datos de seguridad para su cuidado y manejo, respectivamente.

Anexo 1. Certificado de análisis de las nanopartículas de ZnO obtenido por Sigma-Aldrich.



3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigmaaldrich.com
Email USA: techserv@sial.com
Outside USA: eurtechserv@sial.com

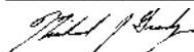
Certificate of Analysis

ZnO

Product Name:
Zinc oxide - nanopowder, <100 nm particle size

Product Number: 544906
Batch Number: MKCP6471
Brand: ALDRICH
CAS Number: 1314-13-2
MDL Number: MFCD00011300
Formula: OZn
Formula Weight: 81.39 g/mol
Quality Release Date: 17 MAY 2021

| Test | Specification | Result |
|--------------------------------------|-----------------------|----------|
| Appearance (Color) | White | White |
| Appearance (Form) | Powder | Powder |
| X-Ray Diffraction | Conforms to Structure | Conforms |
| Complexometric Titration % Zinc | 79.1 - 81.5 % | 79.9 % |
| Size Average Particle Size | < 100 nm | 71 nm |
| Size Specific Surface Area (m2/g) | 10 - 25 | 15 |


Michael Grady, Manager
Quality Control
Milwaukee, WI US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



EFFECTOS DE LAS NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE ZnO (NP-ZnO) SOBRE LA LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA (*Eisenia foetida*) COMO ORGANISMO DE PRUEBA

Anexo 2. Hoja de seguridad de las nanopartículas de ZnO adquirido por el fabricante.

Sigma-Aldrich

www.sigmaaldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Versión 8.5
Fecha de revisión 03/29/2022
Fecha de impresión 08/07/2023

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Óxido de cinc

Referencia : 544906
Marca : Aldrich
No. Índice : 030-013-00-7
No. CAS : 1314-13-2

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Síntesis de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química S de RL de CV
Parque Industrial Toluca 2000
Calle 6 Norte No. 107
50200 TOLUCA
MEXICO

Teléfono : +52 (0)1 800 007 5300
Fax : +52 (0)1 800 712 9920

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 800-00-214-00 (SETIQ)
800-681-9531 (CHEMTREC)
(55) 55-59-15-88

SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación SGA de acuerdo con 29 CFR 1910 (OSHA HCS).

Peligro a corto plazo (agudo) para el medio ambiente acuático (Categoría 1), H400
Peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático (Categoría 1), H410

Para el texto integro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

2.2 Elementos de las etiquetas del SGA, incluidos los consejos de prudencia

Pictograma



Palabra de advertencia : Atención

Aldrich - 544906

Página 1 de 12

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
operates as MilliporeSigma in the US and Canada

MILLIPORE
SIGMA

| Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional | |
|--|--|
| Título de Tesis: | “Efectos de las nanopartículas metálicas de ZnO (NP-ZnO) sobre la lombriz roja californiana (<i>Eisenia foetida</i>) como organismo de prueba” |
| Autor(a) de la Tesis: | Mercedes Mayo Zurita |
| ORCID: | https://orcid.org/009-004-3845-0143 |
| Resumen de la Tesis: | <p>Se evaluaron los efectos de las nanopartículas de óxido de zinc (NP-ZnO) en la lombriz roja californiana (<i>Eisenia foetida</i>) como organismo de prueba, a través de un bioensayo de toxicidad aguda utilizando el método de contacto directo en un suelo tipo arenosol. La caracterización de las propiedades estructurales y el tamaño de las NP-ZnO, se llevó a cabo con la difracción de rayos X (DRX) y la morfología se determinó con la microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), estas demostraron una estructura cristalina del tipo wurtzita hexagonal con tamaños de cristalito alrededor de 43 nm, área superficial entre los 10-25 m² g⁻¹ y barras hexagonales con longitudes de 37 nm – 190 nm y diámetros 23 - 94 nm altamente aglomeradas, respectivamente. Para el bioensayo de toxicidad aguda con las NP-ZnO, se evaluaron seis concentraciones 0, 250, 500, 1,000, 1,500 y 2,000 mg kg⁻¹ (C0, C1, C2, C3, C4 y C5) correspondientes a la LC50 para análisis de supervivencia, donde además se analizaron los parámetros de peso, líquido celómico, movimiento, estímulo y pigmentación. En las concentraciones por debajo de los 1,000 mg kg⁻¹ (LC50) no se observaron efectos en las lombrices, mientras que arriba de 1,000 mg kg⁻¹ se observó mortalidad e incremento de peso, respectivamente. Las propiedades físico-químicas del suelo se analizaron antes y después de contaminarlo con las NP-ZnO a través de la determinación del pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, densidad real y densidad aparente; donde solo el pH mostró cambios de ácido a neutro con respecto al testigo. Por lo tanto, este estudio demostró que el Zn derivado de las NP-ZnO es eficientemente regulado por las lombrices en concentraciones por debajo de la LC50 en un tiempo de exposición corto de 48 horas, mientras que a concentraciones superiores de 1,000 mg kg⁻¹ se vieron efectos, que fue influenciado por las nanopartículas de óxido de zinc.</p> |
| Palabras claves de la Tesis: | Nanopartículas ZnO, lombrices, <i>Eisenia foetida</i> , toxicidad aguda, suelo. |
| Referencias citadas: | 120 |

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.