

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Dosis Altas de Nanopartículas de Óxido de Cobre y Micropartículas de Sulfato de Cobre Modifican las Respuestas Fisiológicas de Semillas y Plántulas de
(Lycopersicon esculentum)

Por:

RODRIGO SÁNCHEZ VILDOZOLA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México.

Septiembre, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Dosis Altas de Nanopartículas de Óxido de Cobre y Micropartículas de Sulfato de Cobre Modifican las Respuestas Fisiológicas de Semillas y Plántulas de
(*Lycopersicon esculentum*)

Por:

RODRIGO SÁNCHEZ VILDOZOLA

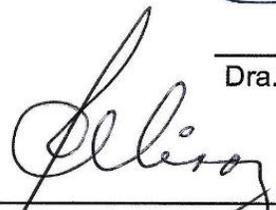
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

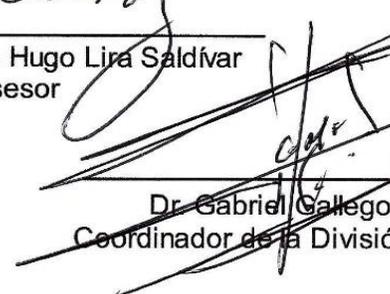
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Asesora Principal


Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar
Coasesor


Dr. Antonio Flores Naveda
Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México.

Septiembre, 2018

DEDICATORIA

A mi familia:

A mis padres

A mi padre el **Sr. Domingo Sánchez Delgado** por haberme apoyado en lo largo de esta trayectoria, y por haber depositado toda su confianza en mí. Por haberme enseñado que en esta vida lo único que no tiene solución es la muerte, de igual forma por haberme educado de la mejor manera, enseñándome todos los valores que me hicieron destacar como una buena persona. Por ser mi motivación para superarme en la vida y con todo mi corazón gracias papa por ser tan bueno conmigo.

A mi madre la **Sra. Verónica Vildozola Matilde** por siempre apoyarme y por esas hermosas palabras de aliento que me han hecho levantarme una y otra vez, en cada momento que he sentido que todo estaba perdido te adoro mamita.

A mis hermanos:

Sra. Berenice Sánchez Vildozola y el **Sr. Eduardo Sánchez Vildozola** por haber depositado su confianza en mí, gracias hermanos los quiero mucho.

A mi esposa

Anahí Padilla Vázquez por apoyarme en cada una de las decisiones que he tomado y por ser la persona que me ha ayudado a salir a delante Te amo corazón.

A mi hijo

Killian Leonel Sánchez Padilla por haber sido una motivación para poder concluir esta carrera, te amo pequeño.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por haberme dado la dicha de haber terminado uno más de mis logros en la vida, porque nunca me has dejado solo y siempre acompañarme en los momentos más difíciles.

A mis padres el **Sr. Domingo Sánchez Delgado** y la **Sra. Verónica Vildozola Matilde** por apoyarme incondicionalmente en mis estudios.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por darme la oportunidad de poder realizar una carrera en sus instalaciones. A mis maestros por brindarme sus grandiosos conocimientos.

A la **Dra. Norma angélica Ruiz Torres** por permitirme haber trabajado con ella, por el apoyo y tiempo que brindó para que esta tesis se realizara.

A el **Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar** por su contribución para el enriquecimiento de este trabajo.

Dr. Antonio Flores Naveda por su contribución para el enriquecimiento de este trabajo.

Al Maestro Josué Israel García López por su paciencia y apoyo en esta investigación.

A mis tíos **Sr. Fernando Vildozola Matilde** y la **Sra. Rosa Vildozola** por su confianza y apoyo.

A mi madrina **Sra. Sol Zúñiga** por todo su apoyo incondicional para mi formación.

A todos mis compañeros de carrera generación de 2013- 2017 por sus risas, consejos y platicas que marcaron mi vida, a mis amigos Dianer Yovani, Simón Calderón, Luis Donald Oseguera, Alberto Flores, Beto García y Julián Jiménez por sus risas y convivencias que dejaron una huella en mi corazón.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. OBJETIVOS.....	10
III. HIPOTESIS.....	10
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	11
4.1 ¿Qué es la nanotecnología (NT)?.....	11
4.2 La nanotecnología en el ambiente.....	11
4.3 Aplicación de la NT en la agricultura.....	12
4.4 Efectos de NPs en la germinación de semillas.....	13
4.5 Efecto de las NPs en el crecimiento de plantas.....	15
4.6 Importancia de las NPs de óxido de cobre (NPsCuO).....	16
4.7 Toxicidad de las NPsCuO.....	16
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
5.1 Localización.....	18
5.2 Bioensayo.....	18
5.3 Imbibición de semillas con NPsCuO.....	18
5.4 Siembra entre papel.....	19
5.5 Variables evaluadas.....	19
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
VII. CONCLUSIONES.....	28
VIII. RECOMENDACIONES.....	28
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	29
X. ANEXOS.....	34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos aplicados en semillas.....	19
Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en semillas de tomate variedad Floradade, tratadas con NPsCuO y MPsCuSO ₄ en diferentes concentraciones.....	22
Cuadro 3. Comparación de medias por tipo de partícula (NPsCuO y MPsCuSO ₄) para variables evaluadas en bioensayo de germinación en semillas de tomate.....	24
Cuadro 4. Comparación de medias por concentración, para variables evaluadas en bioensayo de germinación de semillas de tomate variedad Floradade tratadas con NPsCuO y MPsCuSO ₄	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vigor de germinación por tipo de partículas aplicadas en semillas de <i>S. lycopersicum</i> variedad Floradade.....	34
Figura 2. Respuesta de la longitud de radícula debido a la aplicación de NPsCuO y de MPsCuSO ₄ en semillas de <i>S. lycopersicum</i> variedad Floradade.....	34
Figura 3. Respuesta del vigor de germinación en semillas de <i>S. lycopersicum</i> variedad Floradade debido a la concentración de NPsCuO.....	35
Figura 4. Respuesta de la longitud de radícula por efecto de la concentración de NPsCuO en semillas de <i>S. lycopersicum</i> variedad Floradade.....	35
Figura 5. Respuesta de la longitud de vástago debido a la concentración de NPsCuO en semillas de <i>S. lycopersicum</i> variedad Floradade.....	36
Figura 6. Efecto en la biomasa seca de plántula de tomate debido a la aplicación de NPsCuO en semillas <i>S. lycopersicum</i> variedad Floradade.....	36
Figura 7. Longitud media de radícula de plantas de tomate obtenidas de semillas tratadas con NPsCuO y MPsCuSO ₄ en semillas de <i>S. lycopersicum</i> variedad Floradade.....	37
Figura 8. Longitud media de vástago en plántulas de tomate obtenidas de semillas de <i>S. lycopersicum</i> variedad Floradade tratadas con NPsCuO y MPsCuSO ₄	37

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada a 6 km al sur de Saltillo, Coahuila, México. El trabajo se orientó a investigar el efecto de la aplicación de suspensiones de nanopartículas de cobre (NPsCuO) y micropartículas de sulfato de cobre (MPsCuSO₄) en semillas y plántulas de tomate, para identificar su efecto promotor y/o fitotóxico en procesos fisiológicos relacionados con la germinación y desarrollo de plántulas de *Lycopersicon esculentum* variedad Floradade. Se estableció un bioensayo bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x6 (dos tipos de partícula x 6 concentraciones), con seis repeticiones de 25 semillas cada uno. Las semillas se dejaron imbibir en suspensiones de agua destilada con diferentes concentraciones de NPsCuO y MPsCuSO₄ para su posterior siembra entre papel Anchor. Las concentraciones fueron: 0, 100, 200, 400, 800 y 1600 ppm de NPsCuO, comparando su efecto contra MPsCuSO₄ en las mismas concentraciones. Las plántulas fueron evaluadas a los 5 y 14 días después de la siembra. Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza y comparación de medias mediante la Prueba de Tukey (P<0.05), se utilizó el paquete estadístico SAS (2009). Los resultados indican que las semillas de tomate al imbibirlas en NPsCuO promovieron el desarrollo de radícula y vástago en plántulas. En 100 ppm se mejoró el porcentaje del vigor de germinación, la longitud media de radícula, la longitud media de vástago y el peso seco de plántula. Al evaluar la interacción de los tipos de partículas x concentraciones, se observó que aplicar NPs durante el proceso de imbibición a 800 ppm se incrementó la longitud media de vástago, por otra parte, al incrementar a 1600 ppm, se mejoró sustancialmente la longitud media de radícula.

Palabras clave: nanopartículas, vigor, óxido de cobre, fitotóxico, vástago y radícula.

I. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología (NT) comprende el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia en tamaños nanométricos.

Es sabido que cuando se manipula la materia a escala tan minúscula, presenta propiedades nuevas, por lo que los científicos utilizan la NT para crear materiales y sistemas novedosos y poco costosos con propiedades únicas.

Las propiedades de las nanopartículas (NPs) metálicas dependen de su tamaño, forma y distribución dentro de la muestra. Estos factores se pueden modificar al variar los parámetros experimentales como lo son el tipo de ion, la dosis, y la energía.

Cabe mencionar que los insumos que se emplean en la agricultura convencional presentan limitantes para incrementar la producción y la calidad, propiedades que el mercado demanda; por estas razones, se han requerido cada vez dosis más elevadas de compuestos químicos, trayendo como consecuencia un impacto negativo para el sector agrícola y el ambiente.

Por lo anterior, es necesario disponer de medidas que puedan remediar problemas relacionados con la aplicación excesiva de agroquímicos. Este trabajo se orientó a la investigación relacionada sobre el uso de NPs de óxido de cobre (NPsCuO) en la agricultura, para identificar su efecto promotor o fitotóxico en procesos relacionados con la germinación y el desarrollo de plántulas de *Lycopersicon esculentum*, y a su vez mejorar los sistemas de producción agrícola convencional.

II. OBJETIVOS

Evaluar el efecto de las nanopartículas de cobre (NPsCuO) y de las micropartículas de sulfato de cobre (MPsCuSO₄) en la germinación y en el vigor de semillas y de plántulas de tomate.

III. HIPOTESIS

Las NPsCuO en bajas concentraciones promueven la germinación y el vigor en semillas de tomate.

Las NPsCuO en altas concentraciones inhiben la germinación y el vigor en semillas de tomate.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 ¿Qué es la nanotecnología (NT)?

La NT comprende la creación, el manejo y utilización de materiales en escala manométrica (10^{-9} m) y su aplicación en diferentes áreas como son la química, la ingeniería y la biología etc. La NT se ha traducido en importantes avances en la ciencia. Esta nueva tecnología se encuentra en fase de desarrollo y ha capturado la atención de gobiernos, entidades receptoras e inversionistas que desean indagar el desarrollo de nuevos artículos para poderlos aplicarlos en diferentes áreas (Pájaro *et al.*, 2013).

El término "nanotecnología" se utiliza ampliamente para definir ciencias y técnicas que se emplean en escala manométrica, estas son medidas extremadamente pequeñas "nanos" que aceptan aplicarse y manipular las estructuras moleculares y sus átomos. En resumen, se dirigiría a la opción de crear artículos y maquinas a partir de la modificación de átomos y moléculas. Un nanómetro equivale en escala a la billonésima parte de un metro ($1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9}$ m) (Del Castillo, 2012).

4.2 La nanotecnología en el ambiente

Considerando el tema del ambiente, se ha demostrado que, en los últimos años, la utilización de la nanotecnología para control de la contaminación se ha incrementado relevantemente, dado que el empleo de varios materiales nanoestructurados o con escalas manométricas han sido empleadas como vehículos de transporte en la liberación equilibrada de productos agroquímicos debido a su biodegradabilidad, baja toxicidad, bajo costo y alta reproducibilidad (Aouada y de Moura, 2015).

La nanotecnología puede incrementar la producción agrícola e impulsar la industria de procesamiento de alimentos por medio de aplicaciones de estas propiedades únicas. Los nanosensores tienen la capacidad de detectar microbios, humedad y contaminantes tóxicos a niveles muy pequeños. Los pesticidas orgánicos y contaminantes industriales pueden degradarse en

componentes inofensivos y a menudo útiles, a través de un proceso llamado fotocatalisis, utilizando nanoestructuras de semiconductores de óxido de metal, con esta nueva tecnología ayudaría a la reducción de la contaminación ambiental (Baruah y Dutta, 2009).

4.3 Aplicación de la NT en la agricultura

La oportunidad para la aplicación de la nanotecnología en la agricultura, ha surgido como un avance tecnológico que podría desarrollar y transformar todo el sector agroalimentario, con el potencial de aumentar la productividad agrícola, la seguridad alimentaria y el crecimiento económico por lo menos un 30 % (Sabourin y Ayande, 2015).

La NT en la agricultura puede beneficiar la germinación de los cultivos, a tener cultivos libres de plagas, y a la absorción de nutrientes (Quispe, 2010). Además, se puede obtener una mayor eficiencia en el empleo de compuestos químicos, reduciendo con esto las dosis requeridas, lo cual involucra reducir la contaminación ambiental. También se están desarrollando nanosensores con aplicaciones muy interesantes; se pueden regenerar suelos que se encuentran dañados, tratar enfermedades de los cultivos eficientemente, degradar rápidamente complejas moléculas de agroquímicos y además mejorar la absorción de nutrientes por las plantas. Teniendo estas nuevas estrategias, es viable alcanzar una producción agrícola más rentable y ecológicamente amigable (INTAGRI, 2017).

La participación de la NT en la agricultura posee perspectivas sorprendentes para mejorar la eficiencia de la aplicación de nutrientes a través de nanoformulaciones de fertilizantes y la prevención y el control de plagas, disminuyendo así la cantidad de producto por aplicar a la tierra o a las plantas, a cantidades exactas menores que las requeridas tradicionalmente, asegurando al agroecosistema (Xue *et al.*, 2014).

Gracias a su diminuto tamaño y propiedades físico-químicas de los nanomateriales, han adquirido importancia en el sector agroalimentario,

especialmente en la conservación y en el empaqueo de alimentos. Las aplicaciones futuras se centrarán en la vida útil, la calidad de los alimentos, la seguridad el enriquecimiento y los biosensores para alimentos contaminados o en mal estado, el agua de riego y el agua potable. Se emplean diferentes tipos y formas de nanomateriales dependiendo de las necesidades humanas y del trabajo en la agricultura y la gestión de la calidad del agua (Dasgupta *et al.*, 2017).

Otra aplicación en la que se está utilizando la NT es para aumentar el periodo de almacenamiento de verduras y frutas, de igual forma ayudan a mejorar la germinación, el crecimiento, el rendimiento y la calidad de la planta. La nanotecnología al ser aplicada en los pesticidas ayuda a mejorar el rendimiento de los mismos y a reducir los costos en un 50 %. La nanourea aumentó la eficiencia agronómica de la fertilización nitrogenada en un 44.5% y el rendimiento de grano en un 10.2 %, en comparación con la urea normal (Huang *et al.*, 2015).

4.4 Efectos de NPs en la germinación de semillas

La calidad de la semilla consiste de varios factores, por ejemplo, los morfológicos, fisiológicos y ambientales que interactúen entre sí. La calidad de la semilla tiene varios impactos: riqueza o pobreza, ganancias o pérdidas, de lo cual se basa en gran medida del manejo que se le da en la poscosecha, estos factores son muy importantes para obtener semillas de muy buena calidad (Mezzalama, 2018).

En un estudio para calcular los efectos del empleo de NPsZnO y MPFeSO₄, como una alternativa para favorecer el vigor de germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de *Cucurbita pepo*, se evaluaron cuatro tratamientos (MPFeSO₄, NPsZnO, MPZnO y NPsZnO+Fe), con tres concentraciones (0, 5 y 10 ppm). Los resultados señalaron que las NPs compuestas de Zn + Fe (NPZnFe) a una concentración de 10 ppm en semillas de *Cucurbita pepo* variedad Grey zucchini, promueven un efecto positivo en el vigor de germinación y en el aumento de longitud de vástago, sin embargo, a una

concentración de 5 ppm se observó un efecto similar, incrementando el vigor y la longitud de radícula (Cruz, 2017).

En un estudio elaborado para evaluar los efectos de suspensiones con NPs de óxido de Cu, Zn, Mn y Fe, preparadas en laboratorio en bajas concentraciones (<50 ppm), en la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), dentro de un sistema hidropónico, se obtuvo que las NPsCuO son levemente más tóxicas que el Cu, mientras que la toxicidad de las NPsZnO resultó ser similar al Zn, y que las NPs de MnO y FeO no solo eran menos tóxicas que sus contrapartes iónicas, sino que también promovieron significativamente el crecimiento de las plántulas de lechuga en 12 y 54 %, respectivamente (Liu *et al.*, 2016).

En otro trabajo realizado en plantaciones de trébol y avena forrajeros, para evaluar el efecto sobre la germinación de semillas, así como en el vigor y rendimiento, se usaron cuatro tipos de NPs metálicas: óxido de titanio (TiO₂), óxido de zinc (ZnO), plata (Ag), además de óxido de cobre (CuO). Los resultados mostraron que los cuatro tipos de NPs aplicadas en avena y solo las NPsAg evaluadas en el trébol, aumentaron la germinación al 100 %, aplicando la dosis más baja (750 mg/kg) a semilla. En las observaciones de campo los investigadores mencionan cambios fundamentales en la tasa de emergencia de las plántulas y en la producción de grano (Maity *et al.*, 2016).

Según Zhang *et al.* (2015), al investigar los impactos de las NPsZnO sobre la germinación de la semilla y la elongación de la raíz del maíz (*Zea mays L.*) y del pepino (*Cucumis sativus L.*), se descubrió que las NPsZnO (1,000 mg/L) redujeron la longitud de la raíz del maíz y del pepino en 17 % y 51 % respectivamente, sin embargo, no se presentaron efectos en la germinación. En contraste con el Zn²⁺, se observó toxicidad de las NPsZnO en cuanto al alargamiento de la raíz del pepino.

En un estudio llevado a cabo para evaluar la germinación y el crecimiento de plántulas de semilla de *Brassica nigra* en medio MS, se encontró que a bajas concentraciones de NPsCuO (1-20 mg/L), se promueve el crecimiento de raíces

blancas delgadas, con pelos de raíz gruesos. Estas raíces de igual forma mostraron un aumento en la actividad de eliminación de radicales DPPH (hasta 80 % con una dosis de 10 mg/L), y de antioxidantes totales y con potencial reductor (Zafar *et al.*, 2017).

Por otra parte, se estudió el comportamiento fisiológico y bioquímico de plantas de arroz (*Oryza sativa*) variedad Jyoti tratado con NPsCuO. Los resultados mostraron que la tasa de germinación, las yemas, la biomasa y la longitud de radícula se redujeron, en tanto que la absorción de Cu en las raíces y brotes aumentó en altas concentraciones de NPsCuO. Por otro lado, las conductancias, la tasa de fotosíntesis, la tasa de transpiración y el contenido de pigmentos fotosintéticos, disminuyeron con una pérdida completa a 1000 mg/L NPsCuO (Da Costa y Sharma, 2016).

4.5 Efecto de las NPs en el crecimiento de plantas

En plantas de rábano (Singh y Kumar, 2017) se aplicaron NPsCuO y NPsZnO como compuesto único y también como una mezcla en suspensión. Las dosis utilizadas fueron 10, 100 y 1000 mg/kg de suelo, en la duración de su ciclo de vida, para observar los resultados en la calidad fisiológica de la semilla y su consecuencia en la longitud media del vástago, la longitud media de la raíz y la biomasa, en plántulas F1 de plantas tratadas con NPs. Los resultados mostraron que las semillas F1 disminuyeron en el peso de semilla con aplicación de NPsCuO y de NPsZnO. El resultado de la interacción tóxica entre NPsCuO y NPsZnO sobre el crecimiento de las plantas tuvo un efecto perjudicial.

En otro estudio, tras evaluar la aplicación de 5 tratamientos con NPs: 1). testigo, 2). NPsZnO a 0.6 mg/L, 3). NPsCuO a 0.3 mg/L, 4). NPsFe₂O₃ a 0.6 mg/L y 5). NPsZnO+ CuO+Fe₂O₃ a 0.6, 0.3 y 0.6 mg/L, para saber el efecto en plántulas de tomate, a los 15 y 30 días después de su trasplante. Los resultados mostraron que al aplicar NPsZnO, NPsCuO y NPsFe₂O₃, manifestaron un desarrollo positivo en altura y diámetro de vástago, asimismo provocaron precocidad de la floración en todos los tratamientos, en comparación con el testigo (Moreno, 2017).

4.6 Importancia de las NPs de óxido de cobre (NPsCuO)

Las NPsCuO son de gran interés, ya que, al ser comparadas con otros metales, estas contienen propiedades que resultan beneficiosas para el control de bacterias y de hongos. El efecto de las partículas del cobre depende de las condiciones ambientales, la dosis que se utilicen, la especie y la variedad que se esté estudiando. El estudio del efecto del cobre contra organismos patógenos relacionados con enfermedades de animales y de plantas, ha sido ampliamente reportado en el ámbito agropecuario, como pesticida, y últimamente como promotor de crecimiento vegetal (Lira-Saldivar *et al.*, 2017).

Las NPs de cobre se han analizado extensamente por causa de sus posibles aplicaciones en diversas áreas, como por ejemplo la óptica, la biomedicina y la electrónica, entre otras. Los materiales nanoestructurados a base de cobre se han implementado en películas conductoras, catálisis, nanofluidos, como un poderoso agente antimicrobiano y como lubricador (Rubilar *et al.*, 2013).

4.7 Toxicidad de las NPsCuO

Recientemente, se ha aumentado la implementación de NPsCuO, primordialmente en las áreas científicas e industriales. Sin embargo, las investigaciones para determinar los riesgos que puede provocar para la salud, el impacto ambiental, la salud de las plantas y personas, son muy pocos. Los nanomateriales implican un nuevo desafío y entender los efectos que se pueden presentar en un lapso de tiempo son muy escasos. En el caso de nanomateriales, las inquietudes son demasiado porque sus propiedades pueden reaccionar de diferente forma.

En este sentido, se estudiaron los efectos toxicológicos de NPsCuO en lenteja de agua (*Landoltia punctata*). Se utilizaron tres concentraciones de NPsCuO (0.1, 1.0 y 10.0 g/L), con un testigo (sin NPsCuO). Las variables evaluadas fueron los cambios en la morfología de la planta, la inhibición de la rapidez de crecimiento, los cambios a nivel celular, y los pigmentos fotosintéticos.

Los resultados mostraron que las NPsCuO afectaron negativamente la morfología y la tasa de crecimiento de manera significativa (Moreira *et al.*, 2014).

En un estudio diferente se evaluó el efecto tóxico de las NPsCuSO₄ a nivel fisiológico y molecular, en plantas de frijol mungo (*Vigna radiata L.*). Las plántulas se cultivaron en medio Murashige y Skoog con diferentes concentraciones de NPsCuO (0, 20, 50, 100, 200 y 500 mg/L), en un periodo de 21 días, en condiciones de crecimiento controlado. Los resultados mostraron que al aplicar las dosis a 200 y 500 mg/L de NPsCuO, disminuyó significativamente la biomasa y la longitud de vástago. Se detectó una disminución significativa en la longitud media de la raíz y de la biomasa, con la aplicación en todas las concentraciones de NPCuO (Prakash *et al.*, 2014).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas, del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

5.2 Bioensayo

Para determinar el efecto de la aplicación de NPsCuO (comerciales) en la germinación de semillas de tomate (*Lycopersicum esculentum*) variedad Floradade, se estableció un bioensayo en donde se comparó con la respuesta a MPsCuSO₄, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 6, (dos tipos de partícula x 6 concentraciones), con seis repeticiones de 25 semillas cada una.

5.3 Imbibición de semillas con NPsCuO

Se contaron 150 semillas por cada tratamiento, posteriormente se colocaron en cajas Petri sobre dos capas de papel filtro con ayuda de pinzas para disección. En seguida, con una pipeta se aplicó 10 ml solución de NPsCuO o de MPsCuSO₄ de acuerdo a cada tratamiento (Cuadro 1). Después se mantuvieron en una cámara de germinación por 28 h, con un fotoperiodo 16/8 h (luz / oscuridad) a 25 °C. La finalidad de hacer la comparación entre tipos de partícula, fue determinar si el efecto observado se debe al efecto del CuO en tamaño nano, o a su efecto en tamaño micro, ya que diversos autores señalan que el tamaño nano es una característica muy importante para acrecentar el efecto de material debido a que en la medida que son más pequeñas, pueden penetrar a la planta vía foliar o radicular y penetrar las paredes y membranas celulares (Lira-Saldivar y Méndez, 2016).

Cuadro 1. Tratamientos aplicados en semillas de tomate variedad Floradade.

NPsCuO	MPsCuSO₄
(ppm)	(ppm)
0	0
100	100
200	200
400	400
800	800
1600	1600

NPsCuO= nanopartículas de cobre; MPsCuSO₄ = micropartícula de sulfato de cobre.

5.4 Siembra entre papel

La siembra se realizó entre papel Anchor, se humedeció con agua destilada, posteriormente se colocaron 25 semillas en forma horizontal sobre el papel, cuidando que el embrión se ubicará hacia abajo; en seguida, se humedeció otro papel de la misma medida para cubrir las semillas. Posteriormente se enrollaron en forma de taco de 4 cm de ancho, y se colocaron por tratamiento en bolsas de polietileno, y éstas en canastas, dentro de una cámara germinadora a 25 °C, con una humedad relativa de 75%, por 14 días.

5.5 Variables evaluadas

Primera evaluación

Vigor de germinación en plántulas (VG): cinco días a partir de la siembra se realizó la primera evaluación, correspondiente a la variable denominada vigor de germinación, esto es el vigor o fuerza que posee la semilla para germinar en menor tiempo y establecerse en condiciones de campo, los resultados fueron expresados en porcentaje.

Segunda evaluación

Se realizó a los 14 días después de la siembra y las variables evaluadas fueron:

Plántulas normales (PN): plántulas que poseen todas sus partes (radícula y vástago) bien desarrolladas y sin ninguna malformación visible.

Plántulas anormales (PA): plántulas que poseen vástago o radícula, pero presentan un desarrollo irregular, el resultado fue expresado en porcentaje.

Semillas sin germinar (SSG): semillas duras o muertas que no tuvieron la capacidad de germinar, el resultado se expresó en porcentaje.

Longitud media de vástago (LMV): con la ayuda de una regla milimétrica se midió el largo del vástago, los resultados se expresaron en centímetros.

Longitud media de radícula (LMR): con la ayuda de una regla milimétrica se midió el largo de la radícula, los resultados se expresaron en centímetros.

Peso seco de plántula (PSP): este dato se obtuvo después de haber determinado todas las variables anteriores, para lo cual las plántulas normales, se colocaron dentro de bolsas de papel estraza, mismas que se sometieron a una temperatura de 72°C por 24 horas. Una vez concluido el tiempo de secado, se extrajeron y se dejaron en un desecador, para posteriormente ser pesadas en una balanza analítica, el resultado fue expresado en mg/plántula.

Los resultados obtenidos en este estudio, se sometieron a un análisis de varianza para determinar diferencias estadísticas entre tipos de partículas (NPsCuO y MPsCuSO₄), y entre concentraciones (0, 100, 200, 400, 800 y 1600 ppm), posteriormente se realizó una comparación de medias con la Prueba de Tukey, para establecer el orden de eficiencia de tratamientos utilizando el paquete estadístico SAS (2009).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza del ensayo de semillas de tomate variedad Floradade, expuestas durante la imbibición a diferentes concentraciones de NPsCuO y MPsCuSO₄ (Cuadro 2), mostró diferencias altamente significativas en la fuente de variación tipo de NPsMPs ($P \leq 0.01$), para las variables vigor de germinación, longitud media de radícula y longitud media de vástago; mientras que, para las variables porcentaje de germinación, plántulas anormales y semillas sin germinar, no se encontraron diferencias significativas.

Para la fuente de variación concentración (Cuadro 2) se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las variables vigor de germinación, longitud media de radícula y longitud media de vástago. Esto es, las diferentes concentraciones mostraron efecto en la expresión de variables relacionadas con el vigor de la semilla y de la plántula.

Por otra parte, en la interacción tipo de partícula (NPsMPs) por concentración, se obtuvieron diferencias altamente significativas para las variables longitud media de vástago y longitud media radícula, mientras que para las demás variables no mostraron diferencias significativas. Lo anterior señala claramente que el tipo de NP o de MP y la concentración, afectaron la respuesta fisiológica de algunas de las variables en estudio, las cuales tienen una relación con los procesos de imbibición, metabolismo, así como crecimiento del vástago y de la radícula.

Trabajos que se han desarrollado con la aplicación de NPsCuO en diversas especies agrícolas, han demostrado resultados altamente significativos; tal el caso de Maity *et al.* (2016), en el cual, al realizar un estudio en cultivos forrajeros, avena y trébol para saber su efecto sobre la germinación, el vigor y el rendimiento, se utilizaron cuatro tipos de metales, entre ellos el sulfato de cobre (CuSO₄). Los resultados mostraron que las NPsCuO, incrementaron la germinación al 100 % con la dosis más baja 750 mg/L.

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en semillas de **tomate** variedad Floradade, tratadas con NPsCuO y MPsCuSO₄ en diferentes concentraciones.

F. V	GL	VIG (%)	GER (%)	PA (%)	SSG (%)	LMR (cm)	LMV (cm)	PSP (mg/plántula)
NPsMPs	1	2888.00**	50.00 NS	37.56 NS	0.89 NS	522.50**	29.63**	0.25**
Concentración	5	1729.78**	33.11 NS	60.67 NS	76.44 NS	208.65**	46.97**	0.09 NS
NPsMPs x Conc.	5	768.00 NS	31.33 NS	19.78 NS	63.11 NS	120.99**	117.52**	0.01 NS
Error	1662	124.62	35.42	11.60	25.16	5.42	1.97	0.02
CV %	4.7	6.40	6.40	136.24	112.85	29.42	21.44	13.67

F. V= Fuente de variación; GL=Grados de libertad; **= Altamente significativo ($P \leq 0.01$); *= Significativo ($P \leq 0.05$); NS = No significativo; VIG= Vigor de germinación; GER= Germinación; PA= Plantas anormales; SSG= Semillas sin germinar; LMR= Longitud media de radícula; LMV= Longitud media de vástago; PSP= Peso seco de plántula; % = porcentaje; mg/planta= miligramos por planta; NPsMPs = Tipo de partícula; Conc= Concentración; CV= Coeficiente de variación.

La comparación de medias de la respuesta a la aplicación de NPsCuO y de MPsCuSO₄, durante la imbibición a semillas de tomate variedad Floradade (Cuadro 3), indica que las MPsCuSO₄ promueven el vigor de germinación, parámetro relacionado con el metabolismo de la semilla, permitiendo germinar en menor tiempo, con una diferencia de 12 % con respecto a las semillas tratadas con NPsCuO (Anexo 1).

Con relación a lo anterior, el vigor es la capacidad que tiene la semilla de formar una planta normal en condiciones adversas. El vigor de la semilla expresa la velocidad de germinación, la tasa de crecimiento, la sensibilidad de las plántulas a los factores externos y la capacidad de almacenamiento de diferentes lotes de semilla. Cuando las semillas poseen la característica de vigor, tienden a producir plantas sanas y eficientes, un factor determinante en la longevidad de estas (Filho, 2015).

Por otro lado, las plántulas generadas de semillas tratadas con NPsCuO (Cuadro 3), mostraron tener una mayor longitud media de radícula (8.47 cm), longitud media de plúmula (6.67 cm) y mayor peso seco de plántula (1.17 mg/plántula), superando estadísticamente a las plántulas generadas de semillas tratadas con MPsCuSO₄, que obtuvieron 7.35 cm, 6.40 cm, y 1.01 mg/plántula, respectivamente. Estos resultados no concuerdan con Moreira *et al.* (2014), quienes señalan que las NPsCuO evaluadas en lenteja de agua (*Landoltia punctata*), afectaron la morfología de manera significativa (por toxicidad).

Otro estudio que no coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, es el reportado por Cyrusová *et al.* (2017), tras evaluar la acumulación y el efecto de las NPs de óxido metálico, junto con sus contrapartes a granel y sales metálicas solubles, sobre el crecimiento de la planta de (*Carex vulpina* L.), ya que mostraron que la concentración de 100 mg/L de NPsCuO, afectó significativamente el desarrollo de las plantas y las características de las raíces.

Cuadro 3. Comparación de medias por tipo de partícula (NPsCuO y MPsCuSO₄) para variables evaluadas en bioensayo de germinación en semillas de tomate.

TIPO DE PARTÍCULA	VIGOR (%)	GER (%)	PA (%)	SSG (%)	LMR (cm)	LMV (cm)	PSP (mg/plántula)
NPsCuO	70 b	94 a	2 a	4 a	8.47 a	6.67 a	1.17 a
MPsCuSO ₄	82 a	92 a	3 a	5 a	7.35 b	6.40 b	1.01 b
Media	76	93	3	4	7.91	6.54	1.09
Tukey	5	3	2	2	0.22	0.13	0.10

Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = (P < 0.05)$); VIGOR= Vigor de germinación; GER= Germinación; PA= Plantas anormales; SSG= Semillas sin germinar; LMR= Longitud media de radícula; LMV= Longitud media de vástago; PSP= Peso seco de plántula; % = Porcentaje; cm= centímetros; mg/plántula= Miligramos por plántula; NPsCu = Nanopartículas de cobre; MPsCuSO₄= Micropartículas de sulfato de cobre.

Por otra parte, en la comparación de medias por concentración (Cuadro 4), se observó que al aplicar NPsCuO a semillas de tomate durante la imbibición, se promovió el desarrollo de radícula y de vástago de plántulas. A 100 ppm mejoró el porcentaje del vigor de germinación, la longitud media de radícula, la longitud media de vástago y el peso seco de plántula. Se observó que aplicar 800 ppm, aumentó el desarrollo de la longitud media de vástago, y al incrementar a 1600 ppm, se mejoró sustancialmente la longitud media de radícula.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ponce (2016), ya que al aplicar NPsZnO a 10 ppm en *Cucurbita pepo* variedad Grey zucchini, obtuvo un incremento de la longitud media de vástago; de la misma manera Moreno (2017), al evaluar la respuesta a la aplicación de NPs en plántulas de tomate (NPsZnO, NPsCuO y NPsFe₂O₃) observó un desarrollo favorable en las plántulas de tomate, sobre todo en altura y diámetro de tallo, además de estimular la floración temprana en todos los tratamientos en comparación con el control, cabe resaltar que para la variable altura, el tratamiento con NPsFe₂O₃, fue el que mostró un mayor crecimiento, en comparación con los otros, en dosis bajas (0.6 mg/L).

Resultados parecidos se encontraron en el reporte de Panwar *et al.* (2012), quienes observaron un mayor crecimiento y producción de biomasa seca en plántulas de tomate, cuando aplicaron 20 mg/L al follaje. También concuerda con lo obtenido por Zhao *et al.* (2014), con plantas de pepino cultivadas en maceta, ya que observaron incrementos significativos en longitud y en biomasa seca de la raíz, con la incorporación al suelo de 400 y 800 mg/kg de NPsZnO.

Sin embargo, los resultados no concuerdan con los obtenidos por Prakash *et al.* (2017), quienes evaluaron plántulas de *Brassica napus L.*, en medio semisólido MS con 0, 20, 50, 100, 200, 400 y 500 mg/L de NPsCuO tratadas por 14 días. Los resultados mostraron que las NPsCuO redujeron significativamente el crecimiento de brotes y de raíces en concentraciones altas (500 mg/L).

Resultados similares se reportaron en el trabajo de investigación de Singh y Kumar (2017), tras tratar plantas de rábano con NPsCuO y NPsZnO como compuesto único y con la mezcla de las dos NPs (10, 100 y 1000 mg/kg de suelo), a lo largo de su ciclo de vida, para conocer el efecto en plántulas F1. Las variables evaluadas fueron variables relacionadas con el desarrollo y la calidad fisiológica de la semilla. Los resultados mostraron una reducción en la longitud de la raíz y del tallo, y en la biomasa en plántulas tratadas con NPs de Cu y Zn. De la misma forma Prakash *et al.* (2014), en su investigación reportó un efecto tóxico de las NPsCuO₄ a nivel fisiológico y molecular en plantas de frijol mungo (*Vigna radiata* L.) cultivados en medio MS.

En la variable vigor de germinación (Cuadro 4) se observó que, con 100 ppm, se incrementó a 83 %, en comparación al testigo que obtuvo 68 %; sin embargo, al aumentar la dosis de NPsCuO, el porcentaje tendió a disminuir. El impacto de las NPs en las plantas depende de parámetros como son la composición, la concentración, el tamaño y las propiedades físico-químicas de las NPs y de las especies vegetales en estudio. Los nanomateriales basados en óxido de metal y metal actúan como mediadores del daño del ADN en organismos vivos, pero los mecanismos moleculares por los cuales ocurre el daño están poco estudiados (Chand *et al.*, 2017).

En general se observó que en las interacciones de nanopartículas x concentración para la variable longitud media de radícula (Anexo 7), las NPs superaron en todas las concentraciones a las MPs. Pero en la interacción nanopartículas x concentración para la variable longitud media de vástago (Anexo 8), las MPs superaron a las NPs en dos concentraciones 100ppm y 200ppm, las demás concentraciones fueron superadas por las NPs.

Cuadro 4. Comparación de medias por concentración, para variables evaluadas en bioensayo de germinación de semillas de tomate variedad Floradade tratadas con NPsCuO y MPsCuSO₄.

CONCENTRACIONES	VIG (%)	GER (%)	PA (%)	SSG (%)	LMR (cm)	LMV (cm)	PSP (mg/plántula)
Testigo	68 b	93 a	3 a	4 a	7.24 c	6.56 abc	1.15 a
100 ppm	83 a	94 a	2 a	4 a	8.15 ab	6.76 a	1.05 a
200 ppm	79 ab	92 a	2 a	6 a	7.80 bc	6.37 bc	1.14 a
400 ppm	78 ab	94 a	3 a	3 a	7.89 bc	6.29 c	1.06 a
800 ppm	76 ab	94 a	1 a	5 a	8.0 ab	6.69 ab	1.03 a
1600 ppm	71 ab	94 a	3 a	3 a	8.39 a	6.57 abc	1.14 a
MEDIA	76	93	3	4	7.91	6.54	1.09
TUKEY =0.05	13	7	4	6	0.56	0.13	0.26

Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $P < 0.05$) VIG= Vigor de germinación; GER= Germinación; PA= Plantas anormales; SSG= Semillas sin germinar; LMR= Longitud media de radícula; LMR= Longitud media de vástago; PSP=Peso seco de plántula.

VII. CONCLUSIONES

Las NPsCuO aplicadas a semillas durante el proceso de imbibición, promovieron en plántula el crecimiento del vástago, de la radícula, y aumentaron el peso seco de plántula, variables relacionadas con el vigor de plántula. Lo anterior sugiere que las NPsCuO actuaron como promotoras o reguladoras del crecimiento en plántulas de tomate.

Tomando en cuenta el factor concentración, a 100 ppm se obtuvo la mayor longitud media de vástago y porcentaje de vigor de germinación. Mientras que, con 1600 ppm, se obtuvo mayor longitud de radícula.

La interacción tipo de partícula x concentración, indicó que imbibir las semillas con NPsCuO a 100, 400 y 1600 ppm, promueve de igual manera el desarrollo de la radícula.

El mayor crecimiento del vástago se obtuvo al aplicar 800 ppm de NPsCuO, en la fase de imbibición en semillas de *S. lycopersicum* variedad Floradade.

Se observó que al incrementar la dosis de NPsCuO, se disminuyó el porcentaje de vigor de germinación, obteniendo el mayor valor a 100 ppm.

VIII. RECOMENDACIONES

Continuar investigando para conocer el porqué de los efectos de las NPsCuO en el proceso de germinación, con diferentes variedades de semillas de tomate, para saber si su comportamiento es el mismo o se modifica dependiendo del genotipo.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Aouada, F. A., and M. R. de Moura. 2015. Nanotechnology applied in agriculture: Controlled release of agrochemicals. In nanotechnologies in food and agriculture. Springer International publishing. 103-118 pp. Doi.org/10.1007/978-3-319-14024-7_5.
- Baruah, S. and J. Dutta. 2009. Nanotechnology applications in pollution sensing and degradation in agriculture: a review. Environmental Chemistry Letters. Vol. 7, Issue 3, 191–204 pp. Doi.org/10.1007/s10311-009-0228-8.
- Chand, R., N. Raten., R. Kumar and P. Kumar. 2017. Biosynthesis and effects of copper nanoparticles on plants. Environmental Chemistry Letters. Volume 15, Issue 2, pp 233–240. Doi.org/10.1007/s10311-017-0615-5.
- Cruz, L. I. 2017. Aplicación de nanopartículas y micropartículas de óxido de zinc y sulfato de fierro, y su efecto en la germinación y el crecimiento de plántulas de calabaza (*Cucurbita pepo*). Tesis de Licenciatura. Ingeniero Agrónomo en Producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 54 p.
- Cyrusová, T., S. Petrová., T. Vaněk and R. Podlipná. 2017. Responses of wetland plant *Carex vulpina* to copper and iron nanoparticles. Water, Air, & Soil Pollution. 228:258. Doi.org/10.1007/s11270-017-3436-z.
- Da Costa, M., V.J. and P.K. Sharma. 2016. Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. Photosynthetica. Vol. 54, Issue 1, 110–119 pp. Doi.org/10.1007/s11099-015-0167-5.
- Dasgupta, N., S. Ranjan and C. Ramalingam. 2017. Applications of nanotechnology in agriculture and water quality management. Environmental Chemistry Letters. Volume 15, Issue 4, 591–605 pp. Doi.org/10.1007/s10311-017-0648-9.

- Del Castillo, F. D. 2012. Introducción a los nanomateriales. Facultad de estudios superiores Cuautitlán. UNAM. Cuautitlán Izcalli, México. 82 p. http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/Introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf.
- Filho, J. M. 2015. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*. Vol. 72. N (4). 363-374 pp. Doi: 10.1590/0103-9016-2015-0007.
- Huang, S., L. Wang., L. Liu., Y. Hou and L. Li. 2015. Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in China. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. Volume 35, Issue 2, 369–400 pp. Doi.org/10.1007/s13593-014-0274-x.
- INTAGRI S.C. 2017. La nanotecnología en la nutrición vegetal. *Revista Agro*. Vol. 38. No. 1. 3 pp. Celaya, Guanajuato, México.
- Lira Saldívar, R.H., and B. Méndez. CIQA. 2016. *Agronotecnología*. Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coahuila, México. 273 p.
- Lira Saldívar, R. H., B. Méndez., I. Vera and G. De los Santos. 2017. Potencial de la nanotecnología para el desarrollo de la agricultura sustentable. Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coahuila, México. 22 p.
- Liu, R., H. Zhang and R. Lal. 2016. Effects of stabilized nanoparticles of copper, zinc, manganese, and iron oxides in low concentrations on lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination: nanotoxicants or nanonutrients? *Water, air, & soil pollution*. Vol. 227 N. (1). 42-44 pp. Doi.org/10.1007/s11270-015-2738-2.
- Maity, A., N. Natarajan, D. Vijay, R. Srinivasan, M. Pastor and D. Ram. 2016. Influence of metal nanoparticles (NPs) on germination and yield of oat (*Avena sativa*) and berseem (*Trifolium alexandrinum*). *Procedimientos de la academia nacional de ciencias, india sección b: ciencias biológicas*. Doi.org/10.1007/s40011-016-0796-x.

- Mezzalama, M. 2018. Calidad de la semilla. Libcatalog.cimmyt.org. México. 33 pp. <https://libcatalog.cimmyt.org/Download/cis/58348.pdf>.
- Moreira, C., R. de Almeida, E. C. Schmidt, Z. L. Bouzon, L. C. Ouriques, R. W. dos Santos, C. H. da Costa, D. S. Vicentini and W. Gerson. 2014. Toxicological effects of copper oxide nanoparticles on the growth rate, photosynthetic pigment content, and cell morphology of the duckweed *Landoltia punctata*. *Protoplasma*. Vol. 252, Issue 1, pp. 221–229. [Doi.org/10.1007/s00709-014-0671-7](https://doi.org/10.1007/s00709-014-0671-7).
- Moreno, K. 2017. Aplicación foliar de nanopartículas de zinc, cobre y hierro como estimuladores en el desarrollo de plántulas de tomate. Tesis de Postgrado. Especialista en manejo sustentable de recursos naturales de zonas áridas y semiáridas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 56 p.
- Navarro, M., G. Febles y R. S. Herrera. 2015. El vigor, elemento indispensable de la calidad de las semillas. *Revista cubana de ciencia agrícola*. vol. 49, núm. 4. pp. 447-458. [Http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193045908003](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193045908003).
- Pájaro, N., J. Olivero and J. Redondo. 2013. Nanotecnología aplicada a la medicina. *Revista científica Guillermo de Ockham*. vol. 11 N. (1). 125-133 pp. [Doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007](https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007).
- Panwar, J., N. Jain, A. Bhargaya, M. Sayeed, and Y. Song. 2012. Positive effect of zinc oxide nanoparticles on tomato plants: a step towards developing nanofertilizers. *International conference on environmental research and technology (ICERT)*. Universiti Sains Malaysia. 8 pp. DOI: 10.13140/2.1.2697.8889.
- Ponce, Z. R. 2016. Promoción de la germinación en semillas y crecimiento de plantas de *Lycopersicum esculentum* por nanopartículas de óxido de zinc. Tesis de Licenciatura. Ingeniero en Agrobiología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 49 pp.

- Prakash, M., G. Nair., S. Kim and M. Chung. 2014. Copper oxide nanoparticle toxicity in mung bean (*Vigna radiata L.*) seedlings: physiological and molecular level responses of in vitro grown plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. Volume 36, Issue 11, pp 2947–2958. Doi.org/10.1007/s11738-014-1667-9.
- Prakash, M., G. Nair., S. Kim and M. Chung. 2017. Evaluation of stress effects of copper oxide nanoparticles in *Brassica napus L.* seedlings. *3 Biotech*. volumen7.293. Doi: 10.1007 / s13205-017-0929-9.
- Quispe, C. R. 2010. Nanotecnología en la agricultura. *Revista de información, tecnología y sociedad*. n.5. http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1997-40442010000200020&script=sci_arttext
- Rubilar, O., M. Rai., G. Tortella., M. C. Diez., A. B., and N. Duran. 2013. Biogenic nanoparticles: copper, copper oxides, copper sulphides, complex copper nanostructures and their applications. *Biotechnology Letters*. Volume 35, Issue 9, pp 1365–1375. Doi.org/10.1007/s10529-013-1239-x.
- Sabourin, V. and A. Ayade. 2015. Commercial opportunities and market demand for nanotechnologies in agribusiness sector. *Journal of technology management and innovation*. Vol 10, No 1. 40-51 pp. Doi.org/10.4067/S0718-27242015000100004.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT © 9.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 1521 p.
- Singh, D. and A. Kumar. 2017. Investigating long-term effect of nanoparticles on growth of *Raphanus sativus* plants: a trans-generational study. *Ecotoxicology*. Volume 27, Issue 1, pp. 23–31. Doi.org/10.1007/s10646-017-1867-3.
- Xue, J., Z. Luo., P. Li., Y. Ding., Y. Cui. and Q. Wi. 2014. A residue-free green synergistic antifungal nanotechnology for pesticide thiram by ZnO

nanoparticles. *Scientific Reports*. Volume 4, Art. Number: 5408. Doi. 10.1038/srep05408.

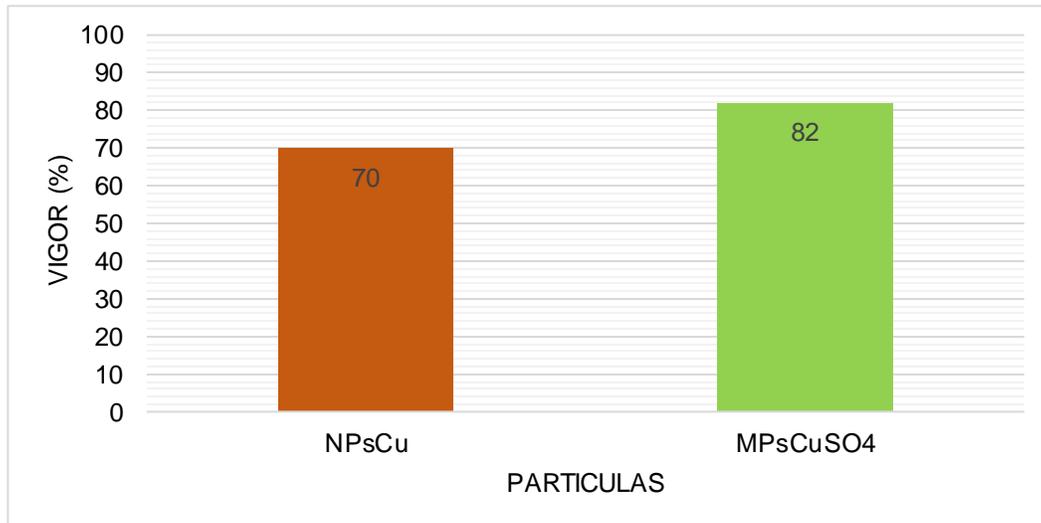
Zafar, H., A. Ali. and M. Zia. 2017. CuO nanoparticles inhibited root growth from *Brassica nigra* seedlings but induced root from stem and leaf explants. *Applied biochemistry and biotechnology*. Volume 181, Issue 1, pp 365–378. Doi.org/10.1007/s12010-016-2217-2.

Zhang, R., H. Zhang., C. Tu., X. Hu., L. Li., Y. Luo and P. Christie. 2015. Phytotoxicity of ZnO nanoparticles and the released Zn (II) ion to corn (*Zea mays L.*) and cucumber (*Cucumis sativus L.*) during germination. *Environmental science and pollution research*. Volume 22, Issue 14, pp 11109–11117. Doi.org/10.1007/s11356-015-4325-x.

Zhao, L., Y. Sun., J. A., H. Vieczcas, A.D. Servin., J. Hong., G. Niu., J.R. Peralta., M. Duarte., and J.L. Gardea. 2013. Influence of CeO₂ and ZnO nanoparticles on cucumber physiological markers and bioaccumulation of Ce and Zn: A life cycle study. *Journal of agricultural and food chemistry*. 61 (49), pp 11945–11951. Doi: 10.1021/jf404328e.

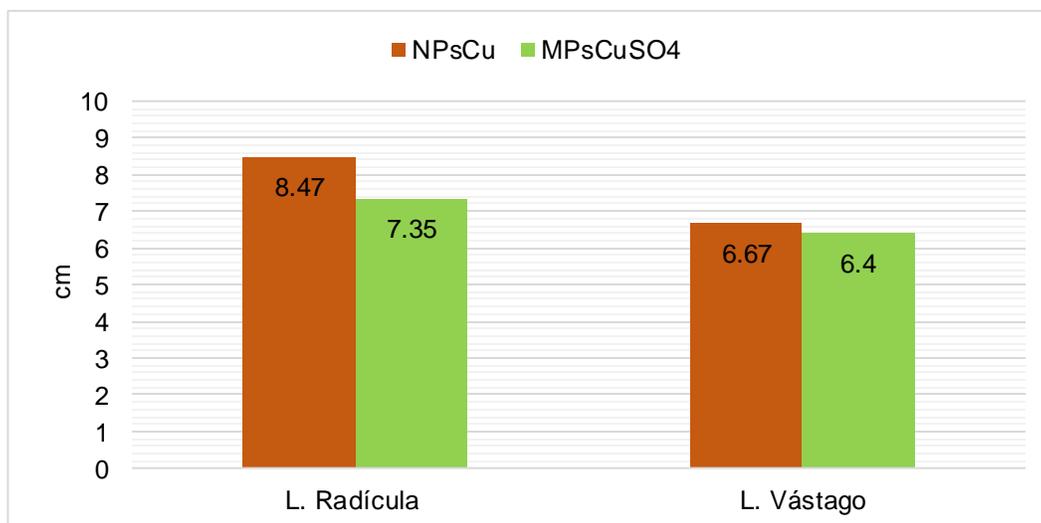
X. ANEXOS

Figura 1. Vigor de germinación por tipo de partícula aplicadas en semillas de *S. lycopersicum* variedad Floradade.



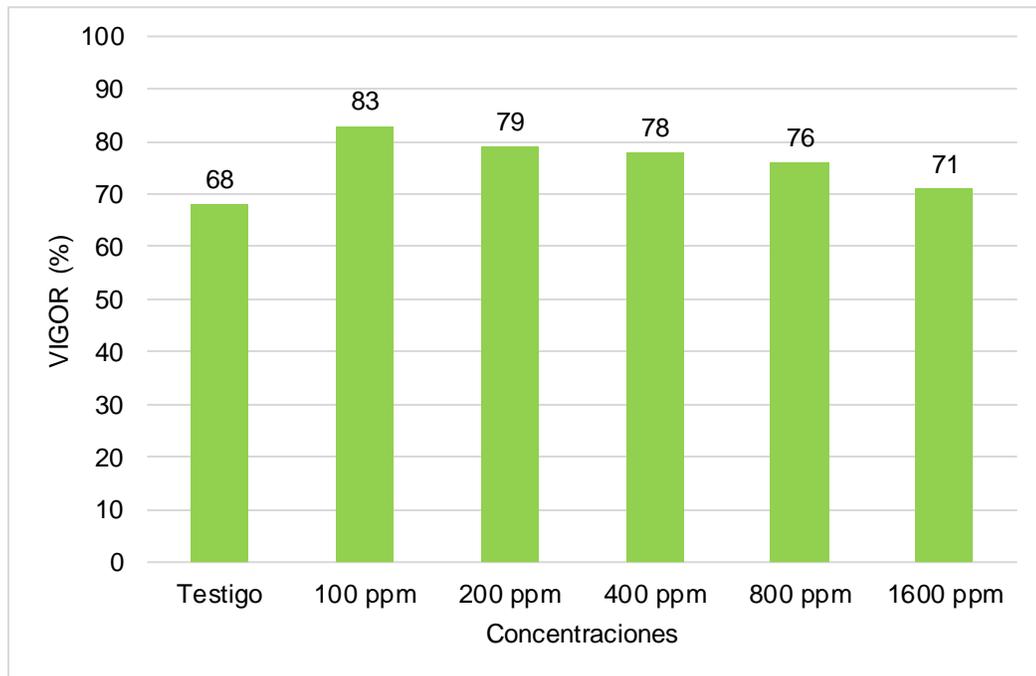
NPsCuO= Nanopartículas de cobre; MPsCuSO₄= Micropartículas de sulfato de cobre.

Figura 2. Efecto en la longitud de radícula debido a la aplicación de NPsCuO y de MPsCuSO₄ en semillas de *S. lycopersicum* variedad Floradade.



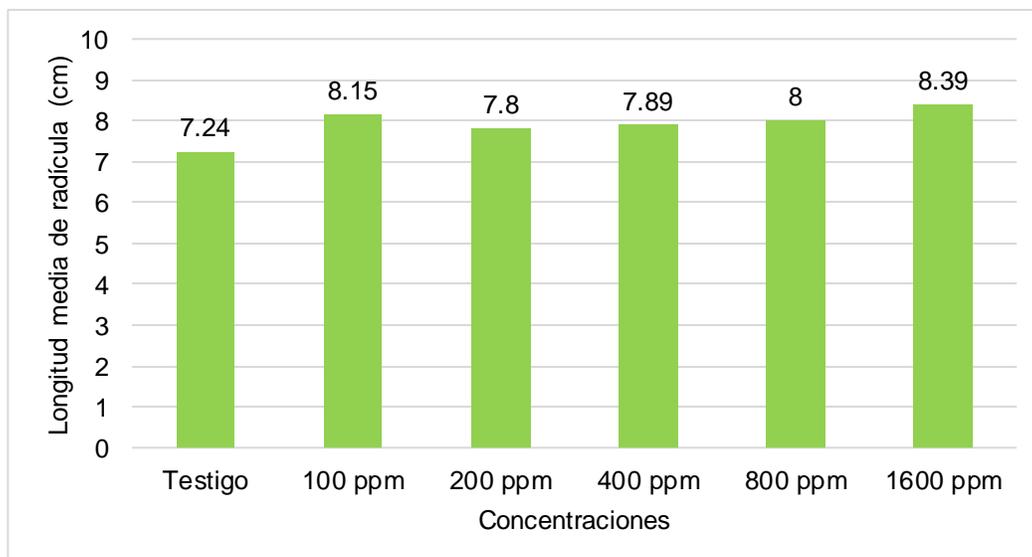
NPsCuO= Nanopartículas de cobre; MPsCuSO₄= Macropartículas de sulfato de cobre.

Figura 3. Respuesta del vigor de semillas de *S. lycopersicum* variedad Floradade debido a la concentración de NPsCuO.



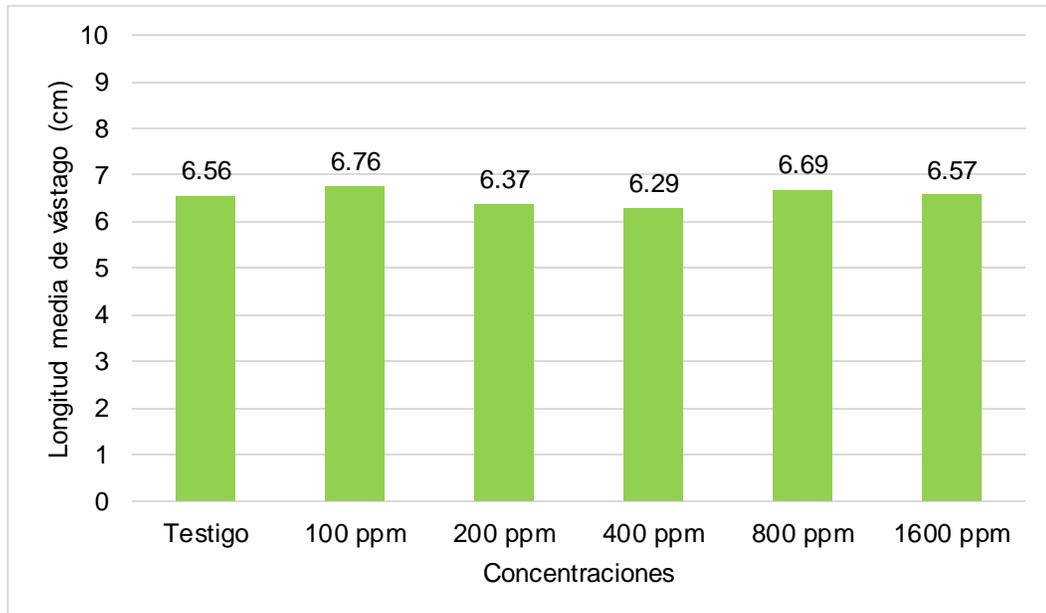
ppm=partes por millón; % = porcentaje.

Figura 4. Respuesta de la longitud de radícula por efecto de la concentración de NPsCuO en semillas de *S. lycopersicum* variedad Floradade.



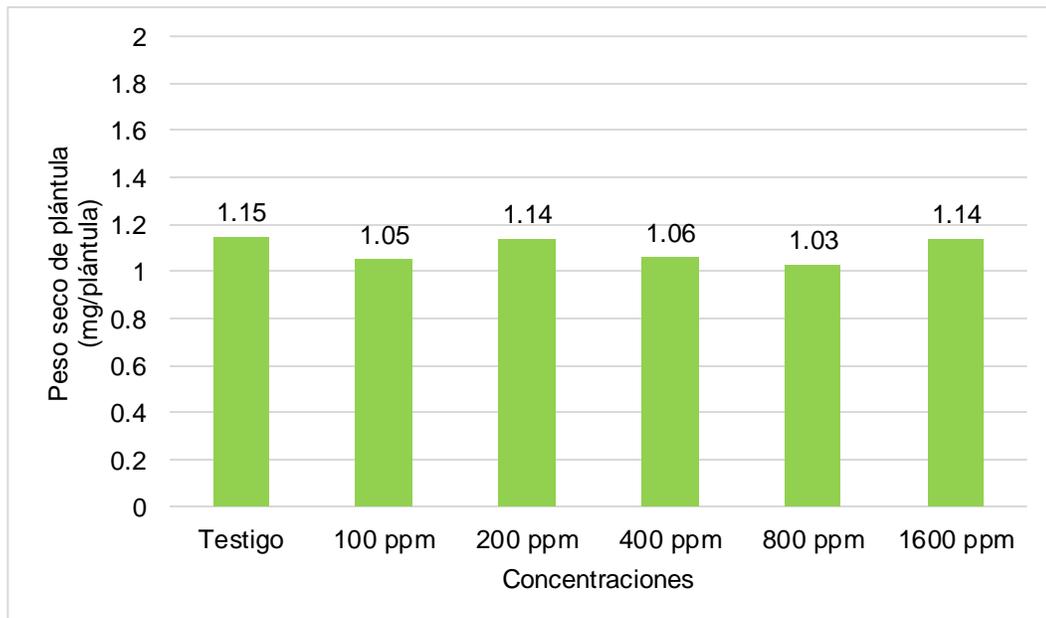
ppm=partes por millón; cm= centímetros.

Figura 5. Respuesta de la longitud de vástago debido a la concentración de NPsCuO en semillas de *S. lycopersicum* variedad Floradade.



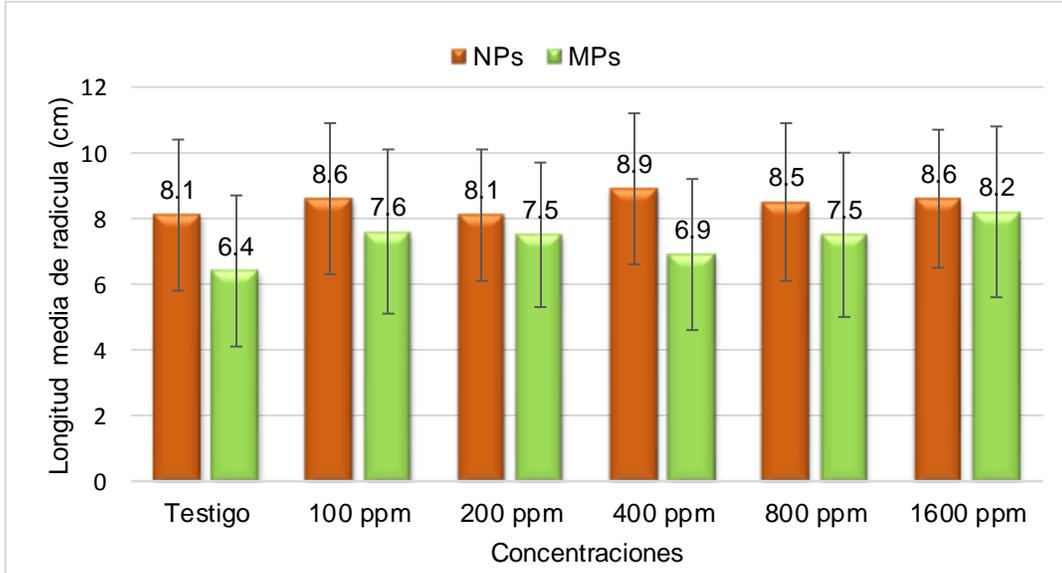
ppm= partes por millón; cm= centímetros.

Figura 6. Efecto en la biomasa seca de plántula de tomate debido a la aplicación de NPsCuO en semillas *S. lycopersicum* variedad Floradade.



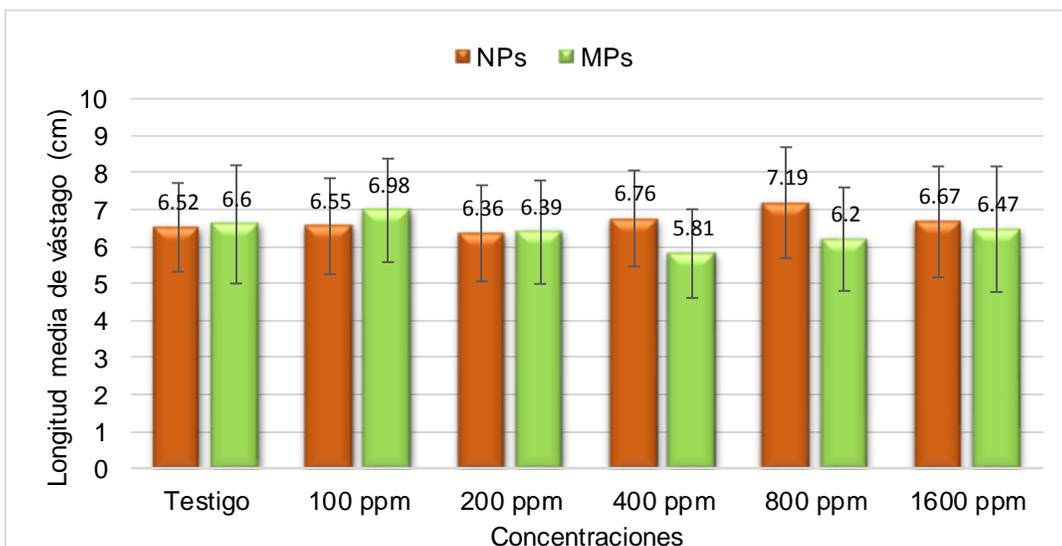
ppm= partes por millón; % = porcentaje; mg/plántula= miligramos por plántula.

Figura 7. Longitud media de radícula de plantas de tomate obtenidas de semillas tratadas con NPsCuO y MPsCuSO₄ en semillas de *S. lycopersicum* variedad Floradade.



ppm= partes por millón; cm= centímetros.

Figura 8. Longitud media de vástago de plántula de tomate obtenidas de semillas de *S. lycopersicum* variedad Floradade tratadas con NPsCuO y MPsCuSO₄.



NPs= Nanopartículas; MPs= Micropartículas; ppm= partes por millón; cm= centímetros.