

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Evaluación de Métodos de Siembra y de Aplicación de Nanopartículas de
Óxido de Cobre en Tomate (*Solanum lycopersicum*)

Por:

ALEJANDRA MARTÍNEZ LIMÓN

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Octubre 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Evaluación de Métodos de Siembra y de Aplicación de Nanopartículas de
Óxido de Cobre en Tomate (*Solanum lycopersicum*)

Por:

ALEJANDRA MARTÍNEZ LIMÓN

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:

Dra. Norma Angélica Ruíz Torres
Asesor Principal

Dra. Pilar Espitia Hernández
Coasesor

Dra. Ileana Vera Reyes
Coasesor

Dr. Alberto Sandoval Rangel
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México
Octubre 2023

Derechos de Autor y Declaración de no plagio

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

Autor principal

Alejandra MTL

Alejandra Martínez Limón

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Sr. J. Jesús Martínez Aguilar y Sra. Ma. De la Luz Limón Balderas

Por todo su apoyo a lo largo de mi vida y la confianza que depositaron en mí para lograr cumplir mis metas y objetivos y sobre todo por el cariño que me dan y las fuerzas para salir adelante, así como también la oportunidad que me dieron para culminar mis estudios académicos y los sacrificios realizados para poder llegar hasta aquí.

A MIS HERMANOS

Les agradezco por el apoyo a la distancia durante toda mi carrera.

A MI MADRINA

Sra. Ma. De la Luz Martínez Aguilar +

Por estar presente y acompañarme en todas las etapas de mi vida y ser de gran apoyo en la mayor parte de mi trayectoria académica y aunque físicamente ya no estás más con nosotros, donde quiera que estés estoy segura de que estarás muy orgullosa de mí y de todo lo que he logrado gracias a tus consejos y enseñanzas.

Manuel Sáenz Alarcón

Por ser mi compañero a lo largo de toda esta etapa y por impulsarme cada día a seguir adelante cumpliendo todos y cada uno de mis objetivos, por aguantarme y brindarme tu apoyo incondicional en los momentos que más lo necesitaba, por motivarme a nunca rendirme y estar conmigo en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A MI FAMILIA

Les agradezco por todo su apoyo a lo largo de esta etapa y por sus buenos consejos que me impulsaron a seguir adelante y nunca rendirme.

A DIOS

Por darme la oportunidad y la fuerza para llegar hasta donde estoy gracias a todas sus bendiciones que nos brinda a mí y a toda mi familia.

A MIS COMPAÑEROS DE GENERACIÓN

Gracias por todo el apoyo y los buenos momentos que compartimos juntos lo cual ha hecho que mi estancia durante la carrera haya sido una muy buena experiencia.

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Por proporcionarme las herramientas necesarias para culminar mi formación académica, así como a todo el personal que en ella laboran por transmitirme todos sus conocimientos y enseñanzas.

A La Dra. Norma Angélica Ruíz Torres

Por su gran dedicación y compromiso al impartir sus clases, por permitirme y ayudarme a realizar este presente trabajo, por sus conocimientos transmitidos, la paciencia y el tiempo invertidos en ello, por ser una gran inspiración y ejemplo para seguir para quienes hemos tenido la fortuna de ser sus alumnos, muchas gracias por todo.

ÍNDICE DE CONTENIDO GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo general.....	2
1.2 Objetivos específicos.....	2
1.3 Hipótesis.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Origen de la nanotecnología.....	3
2.2 NPs en la agricultura.....	3
2.3 NPs en Laboratorio.....	4
2.4 NPs en Invernadero.....	4
2.5 NPs en Campo.....	5
2.6 Cobre.....	5
2.7 Funciones metabólicas y fisiológicas de Cu.....	5
2.8 Deficiencias de Cu.....	6
2.9 Toxicidad por Cu.....	6
2.10 NPs de Cu.....	7
2.11 Productos en mercado de NPsCuO.....	8
2.12 Uso de NPs en el cultivo de tomate.....	8
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
3.1 Localización.....	10
3.2 Material Genético.....	10
3.3 Preparación de NPsCuO.....	10
3.4 Acondicionamiento de las semillas previo a la siembra.....	10
3.5 Sistemas de siembra.....	10

3.6 Métodos de aplicación de NPsCuO.....	11
3.7 Variables evaluadas.....	11
3.7.1 Plántulas Normales al Primer Cuento.....	11
3.7.2 Segundo conteo (Germinación).....	11
3.7.3 Plántulas Normales (PN).....	12
3.7.4 Plántulas Anormales (PA).....	12
3.7.5 Semillas sin Germinar (SSG).....	12
3.7.6 Longitud del tallo (LT).....	12
3.7.7 Longitud de radícula (LR).....	12
3.7.8 Peso Seco de Plántula (PS).....	12
3.8 Diseño experimental.....	13
3.9 Modelo estadístico.....	13
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
V. CONCLUSIONES.....	29
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	30

ÌNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate usando diferentes sistemas de siembra, métodos de aplicación, y concentración de NPsCuO...	16
Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables longitud de tallo, longitud de radícula y peso seco de plántula, evaluadas en el ensayo de germinación usando diferentes sistemas de siembra, métodos de aplicación, y concentración de NPsCuO.....	17
Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate por sistema de siembra.....	19
Cuadro 4. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate por método de aplicación de NPsCuO....	21
Cuadro 5. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate por concentraciones de NPsCuO.....	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interacción SxM para la variable plántulas con alto vigor (PAV).....	23
Figura 2. Interacción SxC la variable vigor de germinación.....	24
Figura 3. Interacción SxC para la variable porcentaje de germinación.....	25
Figura 4. Interacción SxC para la variable de plántulas con alto vigor.....	26
Figura 5. Interacción SxC para la variable longitud de plántula.....	26
Figura 6. Interacción SxC para la variable longitud de radícula.....	27
Figura 7. Interacción SxMxC para la variable longitud de radícula.....	28

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo con el objetivo de determinar el efecto en la germinación y en el crecimiento de plántula de dos diferentes sistemas de siembra: 1. Entre papel Anchor y 2. Sobre papel secante azul (blue blotter paper) en caja de plástico; y de dos métodos de aplicación de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO): 1. Directo a la semilla y 2. Directo a la plántula, en tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande.

Para cada sistema de siembra se establecieron cuatro repeticiones de 25 semillas cada una, aplicando tres concentraciones de NPsCuO a semillas o a plántulas (0, 25, y 50 ppm). Para el método de siembra entre papel, las 4 repeticiones (tacos) se colocaron al azar en una bolsa de polietileno transparente para conservar la humedad, después se ubicaron en una cámara de germinación a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

El ensayo se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial ($2 \times 2 \times 3$) (2 sistemas de siembra \times 2 métodos de aplicación \times 3 concentraciones 0, 25, 50 ppm NPsCuO). Se evaluaron las siguientes variables en porcentaje: vigor de germinación, germinación, plántulas con alto vigor, plántulas con bajo vigor, plántulas anormales, semillas sin germinar y peso seco de plántula en mg/plántula.

Con los datos se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias con la Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), para lo cual se utilizó el programa estadístico SAS versión 9.4 (2013).

En los resultados se observó que las NPsCuO causaron un efecto de fitotoxicidad afectando la germinación y el vigor. En cuanto a los métodos de siembra, en caja de plástico transparente se obtuvieron los mejores resultados. Para el método de aplicación de NPsCuO, se observó mejor respuesta al aplicar directo a las plántulas, posterior a su germinación.

Palabras clave: nanopartículas de cobre, métodos de siembra, germinación, plántula, semilla.

I. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con Mejías *et al.* (2009), la nanotecnología se deriva del griego *nanno* que significa "enano" y proviene de la materia a una escala de 1-100 nanómetros. La nanotecnología tiene la posibilidad de manipular los materiales a escala atómica, subatómica y molecular, lo cual genera enormes beneficios a las generaciones presentes y futuras.

Uno de los principales objetivos de los nanomateriales mejorar sus características y poder ser empleados en el sector agrícola, así como también en el avance de recursos agroindustriales. Diversos estudios señalan que el uso de estos nanomateriales promueve la germinación en plantas, además de que contribuyen a que sean más tolerantes al estrés biótico y abiótico (Genady *et al.*, 2017).

Las NPs metálicas en la agricultura y en la transformación de alimentos son utilizadas para disminuir las concentraciones de productos químicos actualmente empleados, así como también para hacer un uso más eficiente de los agroinsumos (Singh *et al.*, 2015).

Según Rubilar *et al.* (2013), las NPs de cobre han sido objeto de estudio ya que tienen diversas aplicaciones como, por ejemplo, en la biomedicina, la electrónica y la óptica, entre algunas otras. Estos nanomateriales compuestos por cobre han sido empleados en catálisis, películas conductoras, nanofluidos, como un potente lubricador y agente antimicrobiano (referencia).

El cobre en plantas participa en procesos bioquímicos como la fotosíntesis, respiración, respuesta al estrés oxidativo, metabolismo de la pared celular, señalización de hormonas, cofactor de varias enzimas como el superóxido dismutasa, es además esencial en la señalización de transcripción y transporte de proteínas (Yruela, 2005).

En el presente trabajo se evaluaron en laboratorio dos sistemas de siembra de semillas de tomate variedad Río Grande, sobre papel secante azul en cajas de plástico transparente y entre papel Anchor (tacos), asimismo dos métodos de aplicación de nanopartículas, a semillas y a plántulas, y tres concentraciones de

NPsCuO (0, 25, 50 ppm), para determinar su efecto sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de plántulas.

1.1 Objetivo General

- Evaluar en laboratorio el efecto de dos sistemas de siembra, dos métodos de aplicación y tres concentraciones de NPsCuO, en la germinación y crecimiento de plántulas de tomate.

1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de sembrar entre papel y sobre papel en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de tomate, al aplicar diferentes concentraciones de NPsCuO.
- Evaluar el efecto de aplicar las NPsCuO a semillas o a plántulas de tomate, en variables relacionadas con la germinación y el vigor.

1.3 Hipótesis

- H_i = Tratar las semillas con concentraciones bajas de NPsCuO y sembrar sobre papel secante en caja de plástico, mejora el porcentaje de germinación y el crecimiento de plántulas.
- H_0 : Tratar las semillas con concentraciones bajas de NPsCuO y sembrar sobre papel secante en caja de plástico, no mejora el porcentaje de germinación ni el crecimiento de plántulas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen de la nanotecnología

El origen de la nanotecnología (NT) se remonta a los resultados de la investigación del ganador del Premio Nobel de Física Richard Phillips Feynman, quien en 1959 publicó "Mucho espacio" (Hulla, 2015). Feynman propuso manipular y fabricar artefactos con una precisión de unos pocos átomos, pero a pesar de este razonamiento, estas ideas permanecieron estancadas y no prosperaron por años.

Recientemente, la NT se ha empleado en aspectos agroindustriales, los cuales se enfocan en las características más relevantes de los nanomateriales y que impacten en el sector agrícola (Sabourin y Ayande, 2015).

Según Verma *et al.* (2019), estos materiales varían en una escala de 1 a 100 nanómetros (nm).

Genady *et al.* (2017) señalan que el uso de nanomateriales promueve la germinación en plantas, así como también contribuye a que éstas sean más tolerantes al estrés biótico y abiótico, incrementando la administración y uso eficaz de nutrientes, además de tener un mejor desarrollo de las plantas, lo cual ocasiona un menor efecto ambiental en cuanto a metodologías tradicionales.

2.2 NPs en la agricultura

En la agricultura, las NPs metálicas pueden ser utilizadas para incrementar la eficiencia de los agroinsumos, así como también disminuir las concentraciones de productos químicos a emplear (Singh *et al.*, 2015). Cota *et al.* (2013) mencionan que, al encapsular los ingredientes activos de las NPs, se incrementa el poder de su composición química, y con esto se puede disminuir la toxicidad y la contaminación de los sistemas agroecológicos.

Además, el incremento en el rendimiento de cultivos y disminución de la contaminación del agua y suelo se puede afirmar que han sido beneficiados por la aplicación de la agronanotecnología (Marchiol *et al.*, 2020).

El empleo de nanomateriales en la agricultura moderna permite la detección temprana de algunas enfermedades causadas por patógenos (Krishnaraj *et al.*, 2016), así como un mejor aprovechamiento en plantas de nutrientes esenciales (Martínez *et al.*, 2016).

2.3 NPs en Laboratorio

En un estudio llevado a cabo para valorar los resultados a la aplicación en bajas concentraciones (<50 ppm) de NPs de óxido de Cu, Zn, Mn y Fe preparadas en laboratorio para la germinación de semillas de *Lactuca sativa* dentro de un sistema hidropónico, se obtuvo que las NPs_{CuO} son por poco más tóxicas que el Cu (Liu *et al.*, 2016).

Betanzos (2017) al realizar aplicaciones de Cu en concentraciones de 10 mg/L sintetizadas en extracto de algas, en frutos sanos de papaya, generó un aumento de vida de anaquel del fruto, ya que el Cu tiene un efecto antifúngico.

Al aplicar NPs_{Cu} en semillas de tomate durante el proceso de imbibición, aumentó el crecimiento del vástago de la planta, así como también de la radícula, y el incremento del peso seco en plántula, por lo tanto, las NPs_{Cu} se desempeñaron como factores promotores de crecimiento (Sánchez, 2018).

2.4 NPs en Invernadero

Solís (2019) describió en su trabajo realizado bajo condiciones de invernadero, que al injertar una planta de tomate y aplicar NPs_{Cu} en el sustrato, la firmeza del fruto se incrementó en un 63.7 %, así como también aumentó el diámetro del fruto.

Al llevar a cabo una investigación en injertos en pepino de la variedad Induran RZ F1 y utilizando como porta injerto el híbrido de calabaza criolla (*Cucúrbita*

máxima), se obtuvo como resultado que el rendimiento y el área foliar (cm^3) en la variable con injerto y con NPsCu, tiene un resultado positivo en la calidad de los frutos (Hernández, 2018).

Linares (2019) mencionó que, al aplicar NPsCu en plantas de pimiento morrón en concentraciones de 100 mg L^{-1} , se incrementó la altura de la planta, diámetro del tallo y aumentó el peso en raíz, así como el número de hojas de la planta.

2.5 NPs en Campo

Las NPs aplicadas en pequeñas concentraciones en campo ayudaron a aumentar la eficacia de los plaguicidas (Patil *et al.*, 2012).

2.6 Cobre

El cobre es el segundo material conductor térmico y de electricidad, presenta un color rojizo en su estructura y puede ser encontrado en piedras, suelo, aire y agua. Para su proceso de obtención del suelo, se deben cumplir con ciertos procesos ya que este material es de laboriosa degradación en el ambiente, por su composición, ya que tiene un intercambio catiónico elevado (Araya *et al.*, 2014). El cobre es utilizado en el sector agrícola en el control de enfermedades y nutrición de plantas.

2.7 Funciones metabólicas y fisiológicas de Cu

Hay dos formas de absorción de minerales: la primera es a través de la vía foliar, que se absorbe a través de los estomas de la hoja para llegar al mesófilo responsable del transporte descendente a través de la vía del xilema. Este es un tubo conductor cilíndrico de células muertas con una pared de tamiz hasta que llega a la raíz. El segundo es absorbido directamente por la raíz, hasta llegar a la clorofila, donde se sintetizan los nutrientes, y son transportados al interior de la planta a través del floema (Álvarez *et al.*, 2014).

De acuerdo con Marschner (1998), el cobre en conjunto con hierro, magnesio, manganeso y calcio tiene un efecto sinérgico sobre la síntesis de clorofila. Es cofactor de enzimas, y también constituye la plastocianina, que es responsable de la interacción iónica dependiendo del fotosistema I, responsable de la síntesis

de polifenoles en cloroplastos, y también de la producción de lignina en el tallo y de la pigmentación de frutos y la permeabilidad de las membranas. De igual forma, participa en las funciones de oxidación y reducción de la citocromo-oxidasa en el intercambio iónico, lo que interfiere con la absorción y evapotranspiración de la planta.

2.8 Deficiencias de Cu

De acuerdo con Sierra (2016), las plantas contienen una concentración de cobre entre 5 y 20 mg/kg, así como también un 70% de cobre que se encuentra dentro de la clorofila. Cuando se tiene un nivel estable de cobre, éste funge como un elemento móvil dentro de la planta y las mayores concentraciones pueden encontrarse en las hojas y brotes nuevos. Dentro de las plantas más jóvenes se encuentra en mayores proporciones, pero conforme la planta va madurando, estas concentraciones se reducen de manera significativa. Cuando existe una deficiencia de cobre en las plantas, se ocasiona un envejecimiento acelerado de la clorofila, la cual deteriora el rendimiento fotosintético. El cobre permanece inmóvil dentro de la planta mientras que haya una deficiencia. Dentro de la enzima citocromo-oxidasa también es almacenado el Cu, y si éste se encuentra por debajo de los niveles normales, se disminuye el crecimiento de la planta.

El rango en que se encuentra disponible el cobre, en función del pH en suelo es de 4.7 – 7.2 y en el caso de sustratos es de 5.4 – 6.5, en suelos alcalinos se encuentra restringido. Cuando existe un exceso de Nitrógeno, se impide la filtración de Cu, por lo que se genera una deficiencia (López et al., 1996).

2.9 Toxicidad por Cu

Un nanomaterial puede resultar fitotóxico y perturbar los sistemas biológicos, debido a sus características superficiales, forma, tamaño y composición (Dhawan et al., 2009, Hossain et al., 2015).

Rao et al. (2014) indican que al hacer uso en abundancia de NPs metálicas de Zinc, el contenido de clorofila total de las plantas de *Brassica juncea* (mostaza) se ve afectado.

El cobre actúa como metal tóxico mientras que sea aplicado en cantidades más elevadas a las requeridas por el crecimiento vegetal (30 mg/kg). Debido al efecto oxidativo que produce el cobre, las plantas activan un sistema bioquímico de

defensa, entre el cual se encuentra el aumento de las funciones de enzimas antioxidantes, así como, glutatión reductasa, catalasa, ascorbato, superóxido dismutasa y guayacol peroxidasas (León y Sepúlveda, 2012).

Prakash *et al.* (2014) encontraron que al evaluar a nivel molecular y fisiológico la toxicidad de NPsCu en plantas de frijol mungo (*Vigna radiata L.*), con diferentes concentraciones (0, 20, 50, 100, 200 y 500 mg L⁻¹), en un ambiente controlado durante 21 días, se observó que al emplear concentraciones de 200 y 500 mgL⁻¹ de NPsCu, se redujo de modo significativo la biomasa y la longitud del vástago, así como también se encontró que en la aplicación de las demás concentraciones de NPsCu disminuyó significativamente la longitud media de la raíz y de la biomasa.

Woo-Mi *et al.* (2008) realizaron un estudio con dos especies frijol (*Phaseolus vulgaris*) y trigo (*Triticum sativum*), para determinar el impacto de las NPsCu, en medio de agar en concentraciones de 450 a 722 mg L⁻¹. En los resultados obtenidos se observó que el frijol resultó ser más perceptible al aumento de las concentraciones de NPsCu, desde características de germinación, crecimiento vegetal y toxicidad. A mayor concentración, se observaron más partículas en las células mediante espectroscopia.

2.10 NPs de Cu

Las NPsCu cuentan con características distintas al Cu a granel en cuanto a tamaño y superficie específica, por ejemplo, la reactividad química, magnetismo, resistencias físicas, efectos ópticos y conductividad eléctrica (Hong *et al.*, 2015).

Lira *et al.* (2017) señalaron que las NPsCu están dirigidas al control de hongos y bacterias en comparación con otros metales. Para que estas propiedades puedan ser mejor aprovechadas, todo depende de las concentraciones en que sean aplicadas, la variedad a estudiar, las condiciones ambientales y la especie.

Las NPsCu han sido objeto de estudio ya que tienen probables aplicaciones en la biomedicina, la electrónica y la óptica, entre algunas otras. Estos

nanomateriales compuestos por cobre han sido empleados en catálisis, películas conductoras, nanofluidos, como un potente lubricador y agente antimicrobiano (Rubilar *et al.*, 2013).

2.11 Productos en mercado de NPsCu

Hasta el año de 2010 existían aproximadamente más de 800 productos elaborados a partir de la NT y que se encuentran disponibles a nivel mundial, pero sólo el 10 % de éstos son bebidas, alimentos y productos envasados comestibles (Dudo *et al.*, 2010).

En el año 2008 la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US Environmental Protection Agency, EPA), detectó que al menos existían 300 combinaciones que contenían cobre en función de agentes antimicrobianos, dirigidas a la reproducción de bacterias que ponen en riesgo la salud y la vida, por lo que las NPsCu se empezaron a utilizar para prevenir infecciones (Marín *et al.*, 2016).

2.12 Uso de NPs en el cultivo del tomate

Se estudió sistemáticamente el efecto de NPsCu-Quitano sobre el crecimiento de semillas de tomate, se comprobó que se obtiene un rápido crecimiento y eficaz desarrollo (Saharan *et al.*, 2016).

Juárez-Maldonado *et al.* (2016) mencionaron que al aplicar NPsCu (0.006 mg L⁻¹) en el sustrato del cultivo de tomate, se incrementaron los niveles totales de fenoles, así como la transformación del contenido de compuestos enzimáticos y no enzimáticos de respuesta antioxidante.

Al aplicar concentraciones bajas de NPsCu (25 ppm) en plantas de tomate de la variedad Río Grande bajo condiciones controladas de invernadero, se detectaron deficiencias y por consecuencia se obtuvieron frutos pequeños de menor peso y tamaño. Pero al aumentar la concentración a (100 ppm), se desarrolló mejor el fruto, teniendo mayor tamaño y un efecto positivo en la división y elongación celular (Galindo, 2020).

En general, diferentes estudios muestran resultados contrastantes, ya que se ha observado tanto efectos benéficos como de fitotoxicidad al aplicar NPsCu en concentraciones bajas. En este estudio, se quiere identificar si concentraciones bajas de NPsCuO, promueven o inhiben la expresión de variables fisiológicas relacionadas con la germinación y crecimiento de plántula.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), con coordenadas 25° 23' 25'' de latitud norte, 100° 50' 57'' de longitud oeste y a una altitud de 1742 msnm en Buenavista; Saltillo, Coahuila México, durante el mes de septiembre del 2021.

3.2 Material Genético

En esta investigación se utilizaron semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*), variedad Río Grande.

3.3 Preparación de las nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO)

Se prepararon suspensiones con NPsCuO a diferentes concentraciones (0, 25, 50 ppm). Con la ayuda de una balanza analítica se pesaron las nanopartículas en los miligramos requeridos y se depositaron en tubos tipo Falcon con tapa de rosca, aforando con agua destilada a 50 mL. Posteriormente se colocaron en un sonicador por 15 minutos para obtener una dispersión correcta de las NPsCuO. Para el testigo (0 ppm) se utilizó agua destilada siguiendo el mismo procedimiento.

3.4 Acondicionamiento de las semillas previo a la siembra

Para la siembra se contaron 100 semillas para cada tratamiento, se colocaron en cajas de Petri con ayuda de unas pinzas de disección sobre una capa de papel filtro. Posteriormente con ayuda de un gotero se aplicaron 3 ml de NPsCuO de acuerdo con cada tratamiento, al testigo se le aplicó agua destilada en la misma cantidad. Después se colocaron en una cámara de germinación a 25°C \pm 2 °C durante 24 horas. Enseguida se procedió a sembrar las semillas en con el tratamiento correspondiente.

3.5 Sistemas de siembra

Se usaron dos sistemas de siembra para determinar cómo influye en la germinación de la semilla y el desarrollo de la plántula:

1. Cajas de plástico transparente: Se sembraron 25 semillas por caja (4), representando una repetición, colocando las semillas en el fondo sobre papel secante azul previamente humedecido con agua destilada. Las cajas con semillas se colocaron en una cámara de germinación a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
2. Entre papel Anchor: Se sembraron 4 repeticiones de 25 semillas de tomate sobre papel Anchor humedecido con agua destilada, después de la siembra se cubrió con un pliego más de papel previamente humedecido, enrollando ambos para formar un "taco". Las 4 repeticiones de cada tratamiento se colocaron en bolsas transparentes de polietileno para evitar la pérdida de humedad, después se colocaron en una cámara de germinación a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.6 Métodos de aplicación de NPsCuO

Los tratamientos a plántula se realizaron con un atomizador pequeño, aplicando 3 ml de las NPsCuO en las concentraciones de 0, 25 y 50 ppm, a partir de los cuatro días después de la siembra.

Los tratamientos aplicados a semillas se realizaron de acuerdo con lo explicado en 3.4.

3.7 Variables evaluadas

3.7.1 Plántulas Normales al Primer conteo (Porcentaje del vigor de germinación).

Se llevó a cabo cinco días después de la siembra, se evaluaron las plántulas normales (tallos y raíces bien desarrollados), se expresó en porcentaje y representó el vigor de germinación de la semilla.

3.7.2 Segundo conteo (Porcentaje de Germinación)

Se realizó a los quince días después de la siembra en la caja o entre papel Anchor, se hizo el conteo de las plántulas normales, plántulas anormales y las semillas sin germinar.

3.7.3 Plántulas Normales (PN)

En esta variable, se cuantifican las plántulas con sistemas apicales y sistemas radiculares bien desarrollados, que incluyen la raíz principal, cotiledones y tallo.

3.7.4 Plántulas Anormales (PA)

Para esta variable se tienen en cuenta las plántulas que presentaron raíces atrofiadas, raquílicas o ausentes, limitando su óptimo desarrollo. Con tallo ausente o fuertemente torcido, o deforme.

3.7.5 Semillas sin Germinar (SSG)

Se contaron todas aquellas semillas que no germinaron aun con las condiciones necesarias para hacerlo.

3.7.6 Longitud del tallo (LT)

Al finalizar el estudio se midió la longitud del tallo, para lo cual se consideró desde la base del tallo hasta el punto apical más alto y se reportó en centímetros.

3.7.7 Longitud de radícula (LR)

Se midió la longitud de la radícula y se reportó en cm, tomando en cuenta desde el cuello hasta la caliptra o cofia de la raíz.

3.7.8 Peso Seco de Plántula (PS)

Se obtuvo de todas las plántulas normales (PN) de cada repetición, colocándolas en bolsas de papel de estraza perforadas y rotuladas, luego se ubicaron en una estufa de secado a 70 ° C durante 24 horas. Terminado el proceso de secado se pesaron en una balanza analítica.

3.8 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2 x 3 (2 sistemas de siembra (1. entre papel y 2. en caja de plástico) x 2 métodos de aplicación (1. a planta y 2. a semillas) x 3 concentraciones (0, 25, 50 ppm de NPsCuO), después se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias con la Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), para lo cual se utilizó el programa estadístico SAS versión 9.4 (2013).

3.9 Modelo estadístico

Modelo Lineal:

$$y_{ijkl} = \mu + S_i + M_j + C_k + SM_{ij} + SC_{ik} + MC_{jk} + SMC_{ijk} + E_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = Respuesta para la l -ésima unidad experimental del nivel i de S, j de M y k de C.

μ = Media general; S_i = Efecto del nivel i -ésimo del sistema de siembra; M_j = Efecto del nivel j -ésimo del método de aplicación de NPs; C_k = Efecto del nivel k -ésimo de las concentraciones de NPsCuO; SM_{ij} = Efecto de la interacción SM; SC_{ik} = Efecto de la interacción SC; MC_{jk} = Efecto de la interacción MC; SMC_{ijk} = Efecto de la interacción SMC; E_{ijkl} = error experimental.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Cuadro 1), para las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) de la variedad Río Grande, tratadas con NPsCuO indican que la fuente de variación sistemas de siembras (S), presentó diferencias significativas ($P \leq 0.01$) para las variables Vigor, PAV y PBV, mientras que en las variables PA, GERM y SSG, no se observaron diferencias estadísticas significativas. En la fuente de variación método de aplicación (M), no se encontraron diferencias significativas para las variables evaluadas, lo cual indica una respuesta similar al aplicar a semillas o a plántulas. Por otra parte, en la fuente de variación concentración (C), se encontraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.01$) en las variables PAV, PBV, GERM y SSG, mientras que en las variables Vigor y PA no se encontraron diferencias estadísticas significativas.

Para la interacción sistema de siembra x método de aplicación (SxM), no se obtuvieron diferencias estadísticas significativas en las variables Vigor, PBV, GERM, PA y SSG, solo en la variable PAV ($P \leq 0.05$), indicando que se puede sembrar entre papel Anchor o sobre papel secante azul y aplicar las NPsCuO a semilla o a plántula, obteniendo resultados estadísticamente iguales, sin afectar el vigor de germinación y la germinación. En la fuente de variación SxC (interacción sistemas de siembra x concentración de NPsCuO), se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en la variable PAV, además de diferencias $P \leq 0.05$ en las variables Vigor, GERM y SSG, sin embargo, en las variables PBV y PA no se encontraron diferencias estadísticas significativas. Por último, en la fuente de variación SxMxC (interacción sistemas de siembra x método de aplicación x concentración), no se encontraron diferencias significativas en las variables analizadas.

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Cuadro 2), para las variables longitud de tallo (LT), longitud de radícula (LR) y peso seco de plántula (PS), no mostraron diferencias significativas en la fuente de variación sistemas de siembra (S). La fuente de variación método de siembra (M), así como la interacción SxMxC mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en la variable LR, mientras que las variables LT y PS, no mostraron diferencias estadísticas

significativas. En la fuente de variación concentración de NPsCuO (C) se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en las tres variables (LT, LR, PS). En la fuente de variación SxC, se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en las variables LT y LR, mientras que en la variable PS no se encontraron diferencias significativas.

En general, los resultados obtenidos en los análisis de varianza indican que el sistema de siembra tuvo efecto en variables relacionadas con el vigor de la semilla para germinar, lo cual es importante, ya que permitirá identificar el sistema en el cual se obtiene su mayor expresión. El vigor de un lote de semillas es el conjunto de propiedades que determinan el nivel de actividad durante la germinación y posterior emergencia de las plántulas (Delouche, 1976). La expresión del vigor resulta de la interacción de factores inherentes a la variedad, como lo es su metabolismo, y a factores ambientales (Ferguson, 1995).

El método de aplicación tuvo efecto en el crecimiento de la radícula, indicado por las diferencias estadísticas observadas. Por otra parte, las concentraciones de las suspensiones de las NPsCuO afectaron significativamente la expresión de siete de 9 variables evaluadas, revelando una respuesta contrastante a las NPsCuO.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate usando diferentes sistemas de siembra, métodos de aplicación, y concentraciones de NPsCuO.

FV	GL	VIGOR (%)	GERM (%)	PAV (%)	PBV (%)	PA (%)	SSG (%)
Sistema (S)	1	1008.33 **	54.81 ns	1053.72 **	627.89 **	5.92 ns	99.69 ns
Método (M)	1	96.33 ns	54.81 ns	93.72 ns	5.18 ns	0.03 ns	4.92 ns
Concentración (C)	2	2.33 ns	796.11 **	2216.57 **	385.59 **	163.26 ns	374.89 **
SxM	1	3.00 ns	272.75 ns	545.18 *	46.7 ns	241.71 ns	1.23 ns
SxC	2	206.33 *	422.96 *	703.47 **	65.06 ns	178.16 ns	150.89 *
SxMxC	4	31.66 ns	143.25 ns	296.12 ns	104.63 ns	77.43 ns	2.14 ns
Error		61.88	81.94	115.54	42.28	63.72	33.64
CV (%)		9.34	12.26	16.86	4.75	43.71	68.06

** = Significativos $P \leq 0.01$; * = Significativo $P \leq 0.05$; ns = No significativo; FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; Sistema= sistema de siembra caja sobre papel secante azul/entre papel Anchor; Método= Método de aplicación plántula/semilla; Concentración = 0, 25, 50 ppm NPsCuO; SxM= Interacción sistema de siembra x método de aplicación; MxC= Interacción método de aplicación x concentración NPsCuO; SxMxC= Interacción sistema de siembra x método de aplicación x concentración de NPsCuO; CV (%)= Coeficiente de variación; GERM= Germinación; PAV= Plantas con alto vigor; PBV= Plantas con bajo vigor; SSG= Semillas sin germinar.

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables longitud de tallo, longitud de radícula y peso seco de plántula, evaluadas en el ensayo de germinación usando diferentes sistemas de siembra, métodos de aplicación, y concentraciones de NPsCuO.

FV	GL	LT (cm)	LR (cm)	PS (mg/plántula)
Sistema (S)	1	10.75 ns	9.53 ns	51.84 ns
Método (M)	1	29.57 ns	31.26 **	6.73 ns
Concentración (C)	2	212.07 **	71.32 **	107.79 **
SxM	1	70.34 ns	9.71 ns	9.86 ns
SxC	2	107.15 *	8.3 *	7.84 ns
SxMxC	4	41.85 ns	13.94 **	13.2 ns
Error		31.66	2.52	15.9
CV (%)		56.53	18.04	68.69

** = Significativo $P \leq 0.01$; * = Significativo $P \leq 0.05$; ns = No significativo; FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; Sistema= sistema de siembra sobre papel secante azul en caja de plástico/entre papel Anchor; Método= Método de aplicación plántula/ semilla; Concentración = 0, 25, 50 ppm NPsCuO; SxM= Interacción sistema de siembra x método de aplicación; MxC= Interacción método de aplicación x concentración NPsCuO; SxMxC= Interacción sistema de siembra x método de aplicación x concentración de NPsCuO; CV (%)= Coeficiente de variación; LT= Longitud tallo; LR= Longitud radícula; PS= Peso seco de plántula.

En el Cuadro 3 se presenta la comparación de medias para las variables evaluadas por sistema de siembra, se encontró que en las variables VIGOR y PAV la diferencia es estadísticamente superior para el sistema de siembra en caja de plástico sobre papel secante azul, en comparación con el sistema de siembra entre papel Anchor. En la variable GERM no se observaron diferencias estadísticas entre sistemas de siembra, obteniendo valores muy similares, el método de siembra sobre papel en caja de plástico obtuvo 75 %, en comparación con 73 % que alcanzó la siembra de semillas entre papel Anchor. En la variable PBV el sistema de siembra entre papel Anchor obtuvo resultados superiores al método de siembra sobre papel secante en caja de plástico, con 14 % y 6 % respectivamente. Sin embargo, lo que se busca es obtener mayor porcentaje de PAV. Por otra parte, las variables PA, SSG, PS, LT y LR no mostraron diferencias estadísticas entre sistemas de siembra.

Los resultados en el Cuadro 3 indican que sembrar sobre papel secante dentro de la caja de plástico, permite una mayor expresión del vigor de germinación (VIGOR), así como del porcentaje de plántulas con alto vigor (PAV). Lo anterior posiblemente debido a la exposición de las plántulas a la luz directa dentro de la cámara, una vez que germinan las semillas, al estar dentro de la caja de plástico transparente. La mayor cantidad de cobre en las plantas se concentra en el cloroplasto, por lo que tiene una importante participación en el proceso fotosintético. Al ser un elemento metálico puede aceptar y donar electrones, proceso conocido como oxido reducción. Este proceso de oxido-reducción es indispensable para producir energía mediante la fotosíntesis. Otra de las funciones del cobre en las plantas es su participación en la cadena transportadora de electrones durante la fotosíntesis. El vigor depende de interacciones entre la constitución genética, las condiciones ambientales, el grado de madurez, el tamaño y peso de la semilla, así como de su deterioro (Pérez y Pita, 2001). Las principales funciones del cobre en las plantas están relacionadas con su participación en la activación de diversas enzimas, principalmente de las superóxido dismutasas (SOD). Estas enzimas SOD son las responsables de neutralizar especies reactivas de oxígeno producidas naturalmente por el metabolismo de la planta (Marschner, 1998). Las especies reactivas de oxígeno son capaces de oxidar y deteriorar los componentes celulares. La enzima SOD evita esto, neutralizándolos y permitiendo el normal metabolismo de las plantas, resultando en un mayor vigor de plántula.

En la comparación de medias para las variables evaluadas por método de aplicación de las NPsCuO (Cuadro 4), el VIGOR, GERM, PAV, PBV, PA, SSG, PS y LT no mostraron diferencias estadísticas. Por otra parte, la variable LR mostró diferencias estadísticas, el método de aplicación a la semilla obtuvo un valor de 8.97 cm, el cual fue superior al método de aplicación a la plántula, que mostró un valor de 8.64 cm. La raíz es una estructura vital para la plántula, su función es absorber el agua y los nutrientes, además da soporte a la planta (Valla, 1996). La raíz también participa en la tolerancia a la sequía, ya que las raíces profundas contribuyen a la absorción de agua, cuando esta escasea en los perfiles superiores del suelo.

Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate por sistema de siembra.

SISTEMA DE SIEMBRA	VIGOR (%)	GERM (%)	PAV (%)	PBV (%)	PA (%)	SSG (%)	LT (cm)	LR (cm)	PS (mg/plántula)
CAJA	84 a	75 a	69 a	6 b	18 a	7 a	10.14 a	8.76 a	6.50 a
PAPEL	75 b	73 a	59 b	14 a	17 a	10 a	9.76 a	8.86 a	5.41 a
MEDIA	79.08	73.78	63.74	10.04	18.26	8.52	9.95	8.81	5.8
TUKEY	4.6	5.3	6.36	3.85	4.78	3.47	0.75	0.21	2.85

Caja = Sistema de siembra sobre papel azul secante en caja de plástico; Papel= Sistema de siembra entre papel Anchor; GERM= Germinación; PAV= Plantas con alto vigor; PBV= Plantas con bajo vigor; SSG= Semillas sin germinar; LT= Longitud tallo; LR= Longitud radícula; PS= Peso seco de plántula.

En la comparación de medias por concentración de NPsCuO (Cuadro 5), se observó que las variables VIGOR y PA fueron estadísticamente iguales en todas las concentraciones, mientras que para GERM y PAV, el testigo resultó estadísticamente superior con 82 y 77 %, respectivamente. Por otra parte, en ambas variables, la concentración con 50 ppm mostró resultados de 68% y 52%, respectivamente. Esto indica que las NPsCuO causaron fitotoxicidad, afectando la germinación y el vigor de las plántulas. En este sentido, Wojcik y Tukiendorf (2003) y Lequeux *et al.* (2010) mencionaron que, al aplicar concentraciones en exceso de Cu, se puede ocasionar una reducción en la biomasa de la parte radicular y aérea de las plantas; así como también, disminución de la viabilidad de las células de la raíz (Rodrigo-Moreno *et al.*, 2013).

Por lógica, para la variable PBV, al aumentar la concentración de NPsCuO se incrementó su porcentaje, esto es, a mayor NPsCuO en la suspensión, mayor fue el efecto de toxicidad sobre el vigor de la plántula. El daño que causa es a nivel celular, retrasando el crecimiento de las plántulas, reflejándose en el incremento del porcentaje de plántulas con bajo vigor.

Igualmente, para la variable SSG se incrementó su porcentaje al aumentar la concentración de NPsCuO, encontrando que con las concentraciones de 25 y 50 ppm se incrementaron a un 11 %, mientras que el testigo (0ppm) obtuvo 3%.

En la variable PS de plántula, se observó que los resultados fueron estadísticamente más altos a una concentración a 0 ppm (9.2 mg/plántula), en comparación a 50 ppm (3.55 mg/plántula), esto es, se presentó una reducción del 61.41 % en la acumulación de materia seca por plántula, al incrementar de 0 a 50 ppm. En un estudio realizado con *S. bicolor*, indican que la disminución en la productividad de las plantas expuestas a cobre se pudo deber al cierre de estomas, afectando el intercambio de gases y el transporte de electrones en los fotosistemas I y II (Kasim,2006).

En cuanto a la variable LT, el testigo (0 ppm) mostró valores significativamente más altos (10.80 cm) en comparación a las otras dos concentraciones, en donde a 25 ppm se obtuvo 9.62 cm y con 50 ppm una longitud de 9.23 cm. En ambas concentraciones se observó efecto de toxicidad.

Cuadro 4. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate por método de aplicación de NPsCuO.

MÉTODO DE APLICACIÓN	VIGOR (%)	GERM (%)	PAV (%)	PBV (%)	PA (%)	SSG (%)	LT (cm)	LR (cm)	PS (mg/plántula)
PLÁNTULA	81 a	78 a	64 a	10 a	18 a	8 a	10.10 a	8.64 b	6.35 a
SEMILLA	78 a	73 a	62 a	10 a	19 a	9 a	9.81 a	8.97 a	5.25 a
MEDIA	79.08	73.78	63.74	10.04	18.26	8.52	9.95	8.81	5.8
TUKEY	4.6	5.3	6.36	3.85	4.78	3.47	0.75	0.21	2.74

Plántula= Método de aplicación de NPsCuO a la plántula; Semilla= Método de aplicación de NPsCuO a la semilla; PAV= Plantas con alto vigor; PBV= Plantas con bajo vigor; SSG= Semillas sin germinar; LT= Longitud de tallo; LR= Longitud de radícula; PS= Peso seco de plántula.

Cuadro 5. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de tomate por concentraciones de NPsCuO.

CONCENTRACIONES	VIGOR (%)	GERM (%)	PAV (%)	PBV (%)	PA (%)	SSG (%)	LT (cm)	LR (cm)	PS (mg/plántula)
0	80 a	82 a	77 a	5 b	15 a	3 b	10.80 a	9.04 a	9.23 a
25	79 a	72 b	62 b	10 b	17 a	11 a	9.62 b	9.08 a	5.76 ab
50	79 a	68 b	52 c	16 a	21 a	11 a	9.23 b	8.20 b	3.55 b
Media	79.08	73.78	63.74	10.04	18.26	8.52	9.95	8.81	5.8
TUKEY	6.79	7.9	9.4	5.68	7.06	5.14	1.1	0.31	4.12

GERM = Germinación; PAV= Plantas con alto vigor; PBV= Plantas con bajo vigor; SSG= Semillas sin germinar; LT= Longitud tallo; LR= Longitud radícula; PS= Peso seco de plántula.

Esto concuerda con lo reportado por Nair y Chung (2015), quienes encontraron que los efectos de la fitotoxicidad del Cu en plantas incluyen un crecimiento raquítico y desarrollo pobre. En la variable LR se observó mayor crecimiento en el testigo (9.04 cm), sin embargo, estadísticamente igual que al tratar las semillas con 25 ppm (9.08 cm), a diferencia de la concentración con 50 ppm, que fue menor, con una longitud de 8.20 cm. Así como se observó con el tallo, el crecimiento de la radícula también se afectó con la dosis más alta de NPsCuO. En otros cultivos se han observado respuestas similares, en un estudio realizado con alfalfa y lechuga, se observó que al aplicar NPsCuO (0-20 mg L⁻¹) vía riego, no solo alteró el contenido nutricional y la actividad enzimática, sino que también, se redujo su crecimiento (Hong *et al.*, 2015). En este sentido, Kasim (2006) mencionó que el exceso de Cu afecta el proceso de expansión celular provocando la reducción del tamaño celular y en consecuencia disminución del tamaño de la raíz.

La Figura 1 muestra la interacción entre el sistema de siembra y el método de aplicación de NPsCuO, para la variable plántulas con alto vigor. Se observó que, al utilizar el sistema de siembra en cajas de plástico transparente sobre papel secante, y al aplicar las NPsCuO directo a las plántulas se aumentó el porcentaje a 74.18 %; mientras que, al aplicar las NPsCuO a las semillas, se observó un comportamiento similar entre sembrar en la caja sobre papel secante y entre papel Anchor (63.66 % y 61 %, respectivamente). En las cajas de plástico, con aplicación foliar a las plántulas de NPsCuO, posiblemente este no se absorbió en su totalidad, reduciendo el efecto de fitotoxicidad observado al aplicarlas a semillas. Avellan *et al.* (2021) mencionaron que las NPs aplicadas de manera foliar, se absorben principalmente por los estomas, sin embargo, Bombo *et al.* (2019) indicaron que la absorción también se realiza a través de los hidátodos. Por otra parte, León y Sepúlveda (2012) indicaron que, en plantas sembradas en suelo, la absorción del Cu comienza en la epidermis de la raíz y el movimiento de la epidermis a la endodermis es por difusión apoplástica y la translocación de cobre de la raíz a las hojas, a través del xilema, esto se lleva a cabo de forma pasiva por la corriente de la transpiración.

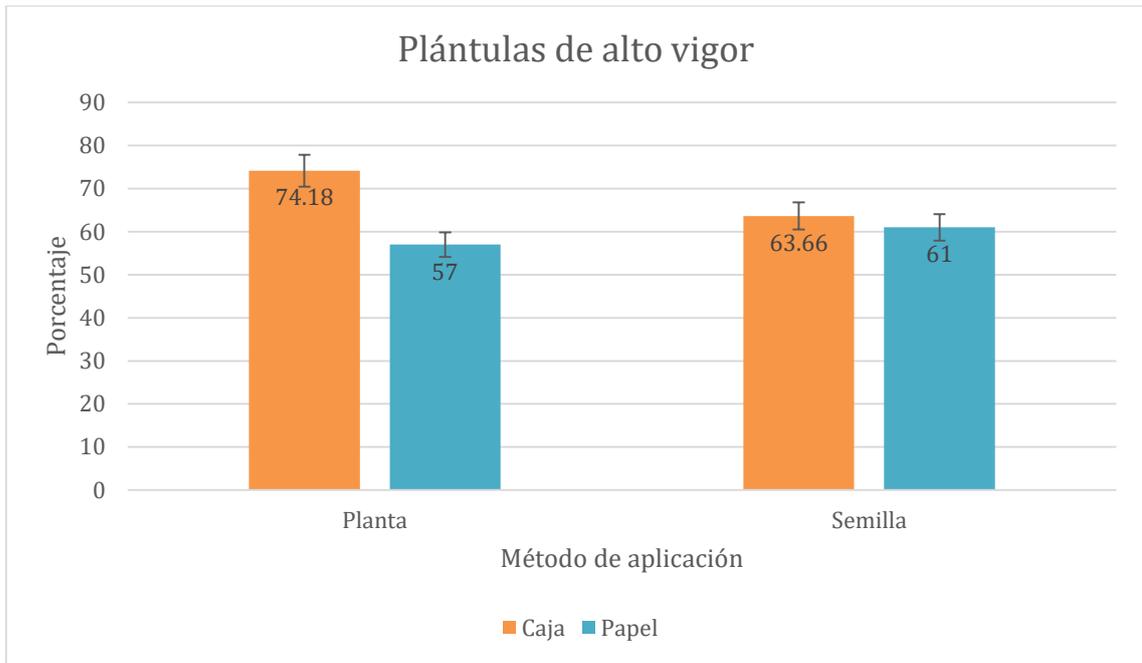


Figura 1. Interacción SxM para la variable plántulas con alto vigor (PAV).

En la interacción sistema de siembra por concentración de NPsCuO (Figura 2), se observó que al sembrar en cajas de plástico se mejoró considerablemente el porcentaje de vigor de las plántulas con respecto a la siembra entre papel, esto en el testigo y al aplicar 25 ppm de NPsCuO. Al incrementar la concentración a 50 ppm, se observó un comportamiento similar entre sistemas de siembra.

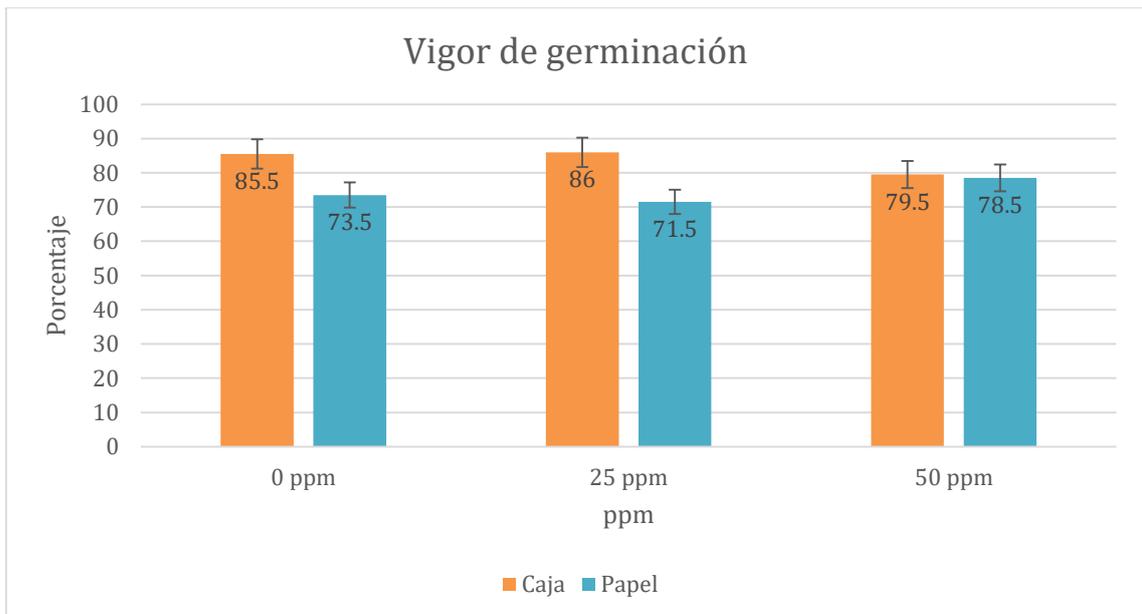


Figura 2. Interacción SxC para la variable vigor de germinación.

La Figura 3 muestra la interacción sistemas de siembra por concentración, observándose un efecto de toxicidad al incrementar la concentración de NPsCuO. El testigo en ambos sistemas de siembra mostró los porcentajes de germinación más altos (85.5 % en la caja y 78 % entre papel), reduciéndose a 61.71 % en la caja y a 73 % entre papel.

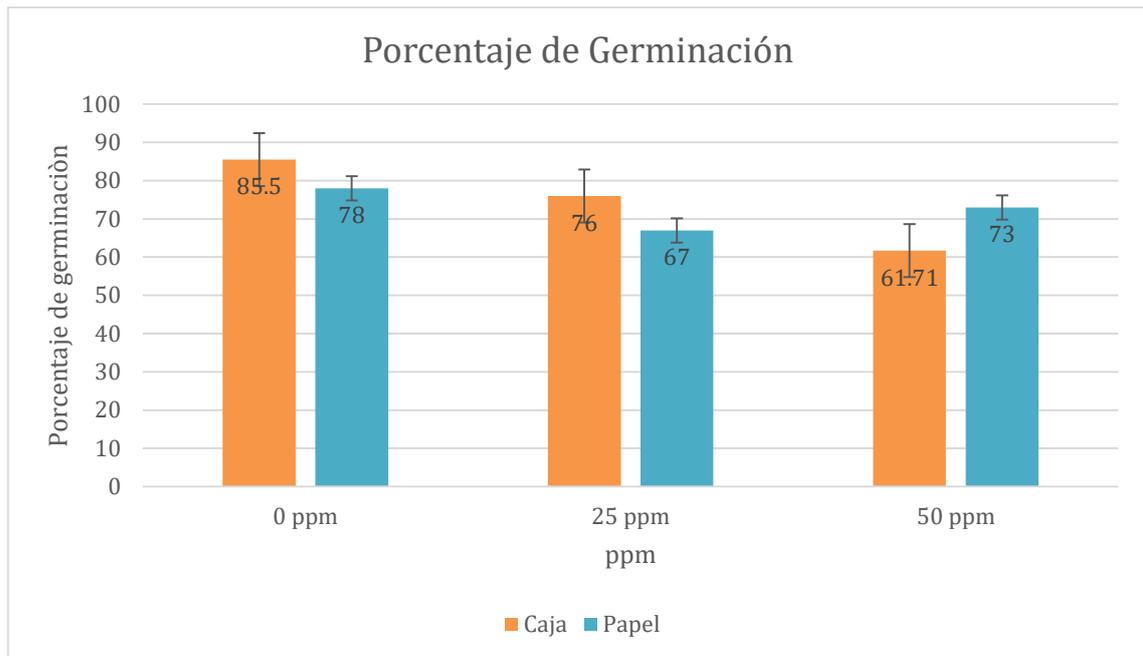


Figura 3. Interacción SxC para la variable porcentaje de germinación.

En la interacción sistemas de siembra por concentración (Figura 4), para la variable plantas con alto vigor, también se observó un efecto de toxicidad, siendo el testigo el que mostró los mejores porcentajes. El sistema de siembra en la caja resultó superior tanto en el testigo, como con la aplicación de 25 ppm, con 83 y 70 % respectivamente. De acuerdo con los resultados, la aplicación de estas concentraciones de NPsCuO afectaron el desarrollo de las plántulas.

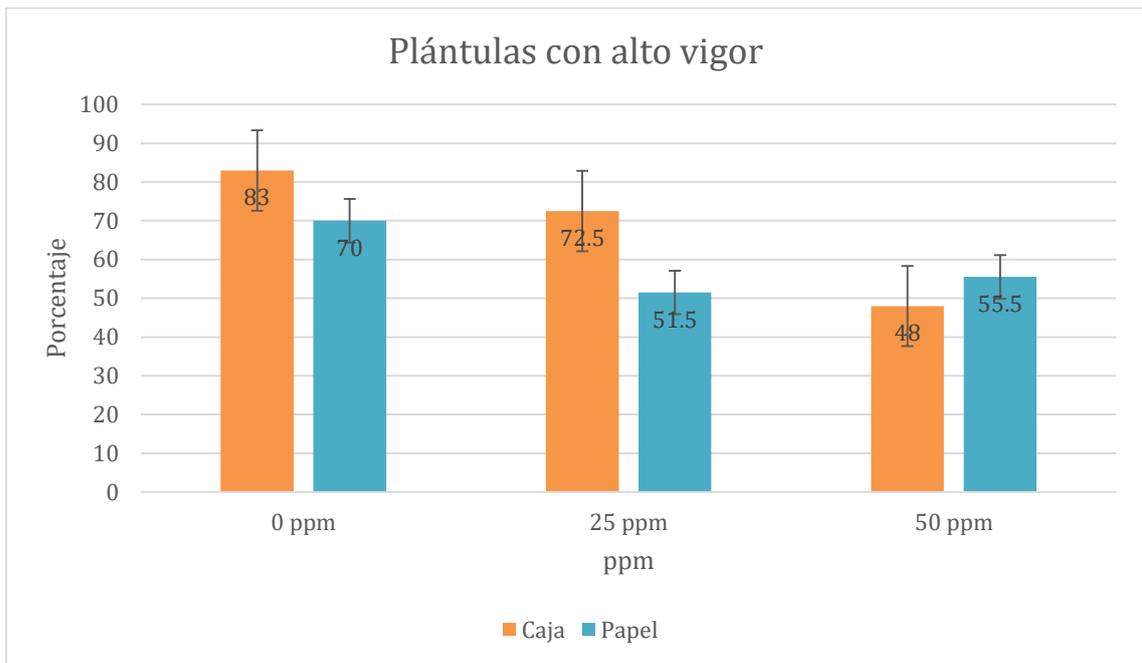


Figura 4. Interacción SxC para la variable de plántulas con alto vigor

En la interacción sistema de siembra x concentración (Figura 5), para la variable longitud de tallo, se observó que, al sembrar las semillas en cajas sobre papel secante, el testigo (0 ppm) presentó la mayor longitud de tallo con una media de 11.24 cm, mientras que en la siembra entre papel se obtuvo una LT de 10.31 cm. Los resultados indican que además de la germinación se afectó el vigor.

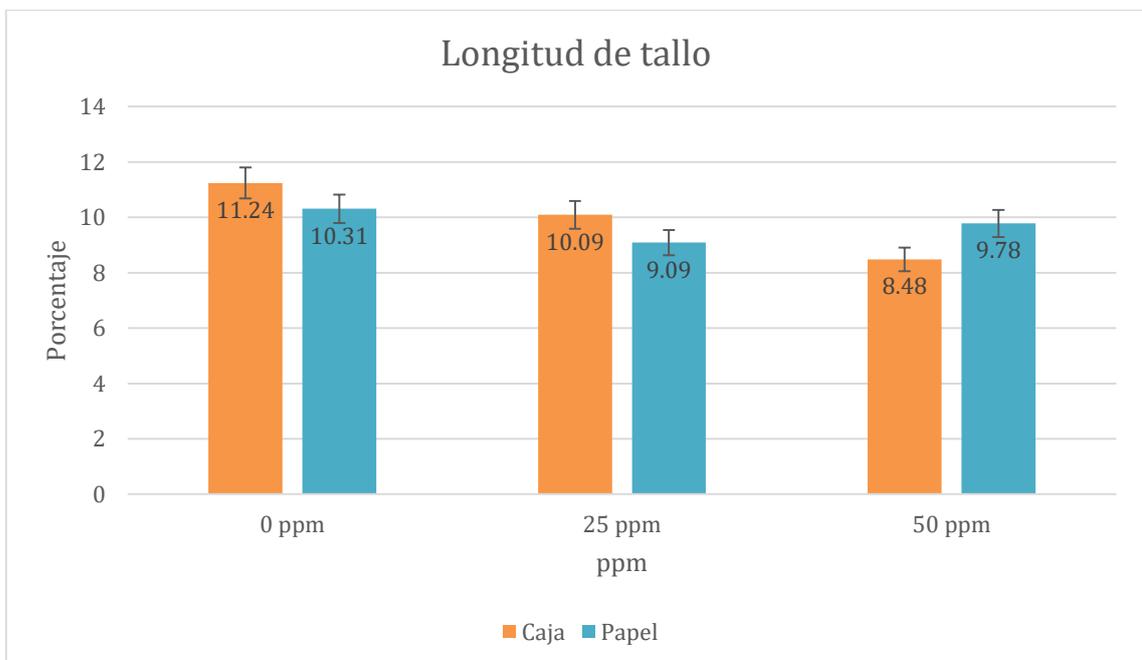


Figura 5. Interacción SxC para la variable longitud de plántula

Al incrementar la concentración a 25 ppm, en el sistema de siembra en la caja, la longitud del tallo se redujo a 10.09 cm, y en la siembra entre papel a 9.09 cm. A 50 ppm se observó un comportamiento diferente, ya que en el sistema de siembra entre papel se incrementó la LT a 9.78 cm. La reducción en la longitud del tallo se puede deber a una disminución en el tamaño celular por efecto del cobre, lo que indica que también perturba el proceso de expansión celular (Kasim, 2006).

En la Figura 6 se muestra la interacción sistema de siembra x concentración, observándose resultados estadísticamente iguales entre sistemas de siembra, dentro de concentraciones. Al parecer la radícula en esta etapa de desarrollo no es tan sensible al cobre, como lo es el tallo. Sin embargo, si se presentó una disminución al incrementar la concentración a 50 ppm.

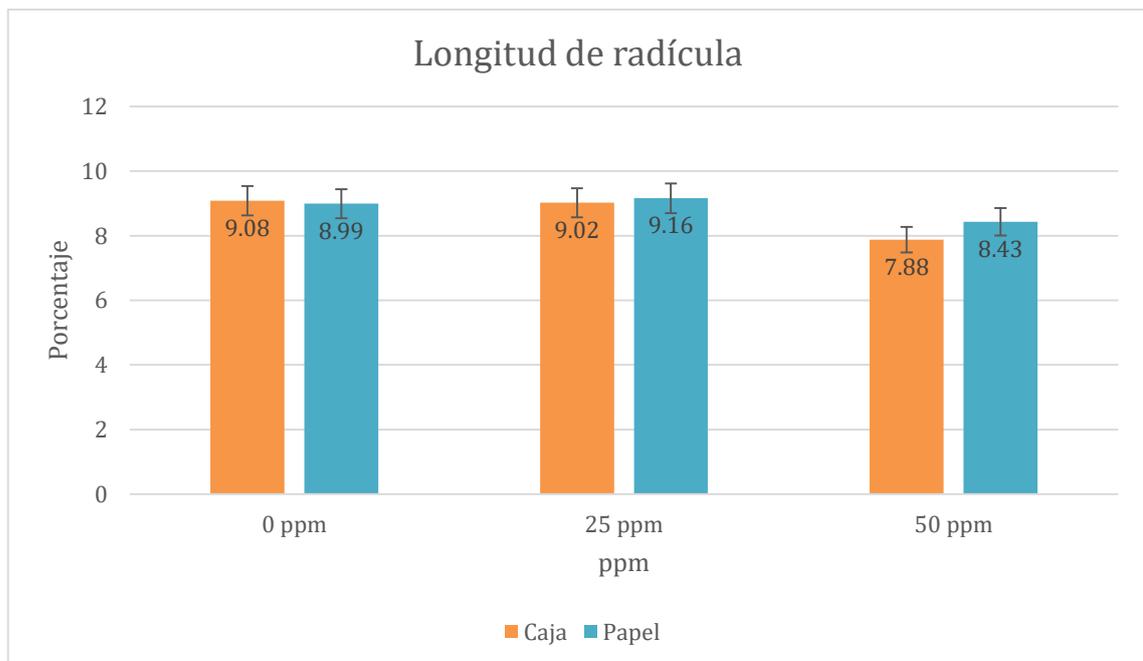


Figura 6. Interacción SxC para la variable longitud de radícula.

En la interacción sistema de siembra x método de aplicación x concentración de NPsCuO (Figura 7), se observó que en el tratamiento que incluyó al testigo (0 ppm) en un sistema de siembra entre papel por el método de aplicación a semilla, se obtuvo la mayor longitud de radícula con 9.43%, en comparación con los demás tratamientos. También se observó que con 50 ppm se presentó toxicidad, en ambos sistemas de siembra y métodos de aplicación.

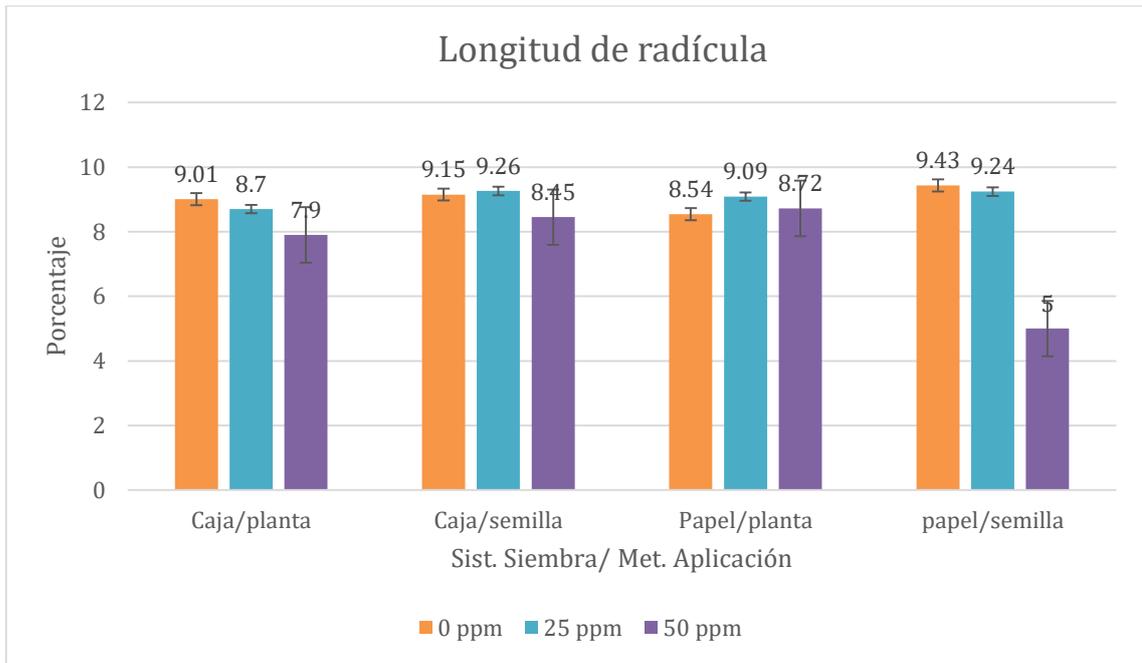


Figura 7. Interacción SxMxC para la variable longitud de radícula.

V. CONCLUSIONES

1. Las NPsCuO a las concentraciones aplicadas a plántulas y a semillas de tomate, produjeron un efecto de toxicidad, resultando en menor porcentaje de germinación y de plántulas vigorosas, y mayor porcentaje de plántulas con tallos cortos.
2. El sistema de siembra sobre papel secante dentro de la caja de plástico favoreció la expresión del vigor, la germinación y el desarrollo del tallo en tomate, a pesar del efecto tóxico de las NPsCuO.
3. El método de aplicación a semilla tuvo efecto positivo únicamente en la variable longitud de radícula.
4. La disminución del crecimiento de plántula por efecto de las NPsCuO puede ser resultado de una reducción en el proceso de división celular y del daño estructural a células meristemáticas.

VI. BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, F. A., Díaz B. P., López M. A. A., and Abadía, J. 2014. Metal species involved in long distance metal transport in plants. *Front. Plant. Sci.* 5 (105):1-20. doi: 10.3389/fpls.2014.00105

Araya, M., Olivares, M., y Pizarro F. 2014. COBRE. Salud, Medio Ambiente y Nuevas Tecnologías. Comunicación latinoamericana. Editor Hernán Sierralta Worstman.

Avellan, A., Yun, J., Zhang, Y., Spielman-Sun, E., Unrine, J.M., Thieme, J., Li, J., Lombi, E., Bland, G., and Lowry, G.V. 2021. Nanoparticle Size and Coating Chemistry Control Foliar Uptake Pathways, Translocation, and Leaf-to-Rhizosphere Transport in Wheat. *ACS Nano* 2019, 13, 5, 5291–5305. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b09781>

Betanzos, R. 2017. "Efecto de las nanopartículas de cobre (Cu) en la vida de anaquel de (*Carica papaya*)". (Tesina). Universidad Tecnológica de la Selva. Ocosingo, Chiapas.

Bombo, A. B., Anderson, Pereira, E.S., Lusa, M.G., Medeiros O., E. Oliveira, J.L. and Ramos Campos, E.V. 2019. A Mechanistic View of Interactions of a Nanoherbicide with Target Organism. *J. Agric. Food Chem.* 2019, 67, 16, 4453–4462. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00806>

Cota, O., Cortez, M., Burgos, A., Ezquerro, y J. Plascencia, M. 2013. Matrices de liberación controlada y micro / nanopartículas de quitosano con potencial antimicrobiano: desarrollo de nuevas estrategias de control microbiano en agricultura. *Revista de ciencia de la alimentación y la agricultura*, Vol. 93(7), 1525-1536.

Delouche, J.C. 1976. Standardization of vigor tests. *J. Seed Technology*. 1:7

Dhawan, A., Sharma, V., and Parman, D. 2009. Nano materials a challenge for toxicologists. *Nanotoxicology* 3: 1-9.

<https://doi.org/10.1080/17435390802578595>

Dudo, A., Choi, D. H., and Scheufele, W. 2010. Food nanotechnology in the news. Coverage patterns and thematic emphases during the last decade. *Appetite*. 56: 78-89. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.11.143>.

Ferguson, J. 1995. An introduction to seed vigour testing. In: Seed vigour testing seminar (H. A. van de Venter, Ed.). International Seed Testing Association. Zurich. p. 14.

Galindo R., y M. A. 2020. Comportamiento fisiológico y agronómico de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) Variedad "Río Grande", tratadas con suspensiones de nanopartículas de óxido de cobre (CuO). Tesis de Ingeniero Agrónomo en Producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 31 p.

Genady, E. A., Ahmed, S. S., Fahmy, A. H., Ashour, and R. M. 2017. Copper sulfate nanoparticles enhance growth parameters, flavonoid content, and antimicrobial activity of *Ocimum basilicum* Linnaeus. *Journal of American Science*, 13(4), 108-114. <https://doi.org/10.7537/marsjas130417.14>.

Hernández, D. 2018. Producción y micromorfología de pepino injertado (*Cucumis sativus* L.) cultivado con nanopartículas de cobre. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.

Hong, J., Rico, C., Zhao, L., Adeleye, A.S., Keller, A.A., Peralta-Videa, J.R., y Gardea-Torresdey, J. L. 2015. Los efectos tóxicos de las nanopartículas o compuestos a base de cobre a la lechuga (*Lactuca sativa*) y alfalfa (*Medicago sativa*). *Reinar. Sci. Proceso*. 17: 177-185.

Hossain, Z., Ghazala, M., y Komatsu, S. 2015. Plant responses to nanoparticles stress. *Int. J. Mol. Sci.* 16: 26644-26653.

Hulla, J., Sahu, S., and Hayes, A. 2015. Nanotechnology history and future. *Human and Experimental Toxicology*, 34(12), 1318-1321. <https://doi.org/10.1177/0960327115603>

Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortiz, H., Pérez-Labrada, F., Cadenas-Pliego, G., and Benavides-Mendoza, A. 2016. Cu nanoparticles absorbed on chitosan hydrogels positively alter morphological, production, and quality characteristics of tomato. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 89, 183-189. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2016.089.023>

Kasim, W. 2006. Changes Induced by Copper and Cadmium Stress in the Anatomy and Grain Yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *International Journal of Agriculture & Biology*, 8: 123-128.

Krishnaraj, C., Ji, B., Harper, S., and Yun, S. 2016. Plant extract-mediated biogenic synthesis of silver, manganese dioxide, silver-doped manganese dioxide nanoparticles and their antibacterial activity against food-and water-borne pathogens. *Bioprocess and Biosystems Engineering*.1:1-14. DOI: 10.1007/s00449-016-1556-2

León, J.M., y Sepulveda, G.J. 2012. El daño por oxidación causada por cobre y la respuesta antioxidante de las plantas. *Interiencia*, 37(11),805

Lequeux, H., Hermans, C., Lutt, S., and Verbruggen, N. 2010. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. *Plant. Physiol. Biochem.* 48(8):673-682. DOI: 10.1016/j.plaphy.2010.05.005

Linares, N. U. 2019. Aplicación de Nanopartículas de Selenio, Silicio y Cobre en el Crecimiento y Desarrollo del Cultivo de Pimiento Morrón (*Capsicum annum*

L). Tesis de Ingeniero en agrobiología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 33 p.

Lira Saldívar, R.H., y B. Méndez. CIQA. 2017. Agronanotecnología. Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coahuila, México. 273 p.

Liu, R., Zhang, H., and Lal, R. 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

López, G. J., y Segovia C. 1996. La fertilización. En: Sistemas de producción e incidencia ambiental del cultivo en suelo enarenado y en sustrato. Fundación Argentaria-Visor Distribución, Madrid, P. 95-110.

Marchiol, L., Lafisco, M., Fellet, G., and Adamiano, A. 2020. Nanotechnology supports the next agricultural revolution: Perspectives to enhancement of nutrient use efficiency. In Advances in Agronomy (1st ed., Vol. 161). <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.12.001>

Marín, V., and Hartemann, P., Engels-Deutsch, M. 2016. International Journal of Hygiene and Environmental Health. ELSEVIER: 7.

Marschner, H. 1998. Mineral Nutrition of higher plants. Academic Press. San Diego, pp. 1889.

Martínez-Fernández, D., Barroso, D., and Komárek, M. 2016. Root water transport of *Helianthus annuus* L. under iron oxide nanoparticle exposure. Environmental Science and Pollution Research. 23: 1732-1741. DOI: 10.1007/s11356-015-5423-5

Mejías Sánchez, Y., Niviola Cabrera, C., Toledo Fernández, A.M., y Duany Machado, O.J. 2009. "La nanotecnología y sus posibilidades de aplicación en el campo científico – tecnológico. *Revista Cubana de Salud Pública* 35(3).

Nair, P., and Chung, I. 2015. Study on the correlation between copper oxide nanoparticles induced growth suppression and enhanced lignification in *Indian mustard* (L.), 113: 302-313.

Patil, C., Borase, H., Patil, S., Salunkhe, R., and Salunke, B. 2012. Larvicidal activity of silver nanoparticles synthesized using *Pergularia daemia* plant latex against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi* and nontarget fish *Poecilia reticulata*. *Parasitology Research*, 111(2), 555-562.

Pérez García, P., y Pita Villamil, J. M. 2001. Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas. Hojas divulgadoras número 2112. Universidad Politécnica de Madrid. España. DOI: 10.1007/s00436-012-2867-0

Prakash, M., Nair, G., Kim, S., and Chung, M. 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

Rao, S. and Shekhawat, G.S. 2014. Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism, and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*, *J. Environ. Chem. Eng.* 2:105–114. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.11.029>

Rodrigo-Moreno, A., Andrés-Colés, N., Poschenrieder, C., Gunse, B., Peñarrubia, L., and Shabala, S. 2013. Calcium and potassium permeable plasma membrane transporters are activated by copper in *Arabidopsis* root tips: linking copper transport with cytosolic hydroxyl radical production. *Plant. Cell. Environ.* 36(4):844-855. <https://doi.org/10.1111/pce.12020>

Rubilar, O., Rai, M., Tortella, G., Diez, A. B., and Duran, N. 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 Ayande, A. 2015. Commercial opportunities and market demand for nanotechnologies in agribusiness sector. *Journal of technology management and innovation*. 10(1):40-51.

Saharan, V., Kumaraswamy, R.V., Choudhary, R.C., Kumari, S., Pal A., Raliya, R., and Pratim Biswas, P. 2016. Cu-Chitosan nanoparticle mediated sustainable approach to enhance seedling growth in maize by mobilizing reserved food, u agric. *Food Chem.* XXX, DOI: 10.1021/acs.jafc 6b02239

Sánchez, V. R. 2018. Concentraciones Altas de Nanopartículas de Oxido de Cobre y Micropartículas de Sulfato de Cobre Modifican las Respuestas Fisiológicas de Semillas y Plántulas de (*Lycopersicum esculentum*). Ingeniero agrónomo en producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 28 p.

Sierra, C. 2016. Una mirada a la relación entre el cobre, el suelo y las plantas. El Mercurio. S.A.P.

Singh, A., Lal, M., Singh, S., Khan, A., Singh, S., and Tiwari, A. 2015. Scope of nanotechnology in future agriculture-an overview. *Agrica*, 3(2), 1-13.

Solís, M. P. 2019. Crecimiento y calidad nutracéutica del fruto de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) injertado y cultivado con nanopartículas de cobre. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México: pp: 14-28.

Valla, J. J. 1996. Botánica: Morfología de las Plantas Superiores. Editorial Hemisferio Sur. 352 p.

Verma, S. K., Das, A. K., Gantait, S., Kumar, V., and Gurel, E. 2019. Applications of carbon nanomaterials in the plant system: A perspective view on the pros and cons. *Science of the Total Environment*, 667, 485–499. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.409>

Wojcik, M., and Tukiendorf, A. 2003. Response of wild type of *Arabidopsis thaliana* to copper stress. *Biol. Plantarum*. 46(1):76-84.

Woo-Mi, L., Joo, Y., Yoon, H., and Seok, H. 2008. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27(9):1915-1921.

Yruela, I. 2005. Copper in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17 (1): 145-156.