

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Efecto de las Nanopartículas de Cu Sobre el Crecimiento, Desarrollo y Contenido de Compuestos Bioactivos en Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Bajo Invernadero

Por:

EUSEBIO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para poder obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México

Febrero

2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Efecto de las Nanopartículas de Cu Sobre el Crecimiento, Desarrollo y Contenido de Compuestos Bioactivos en Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Bajo Invernadero

Por:

EUSEBIO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por el Comité de Asesoría:

Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor Principal

Dr. Alberto Sandoval Rangel

Coasesor

Dr. Marcelino Cabrera de la Fuente

Coasesor

Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Febrero

2019

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS	vii
RESUMEN.....	viii
DEDICATORIAS	ix
AGRADECIMIENTOS	xi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	3
Objetivos específicos	3
HIPÓTESIS.....	4
LITERATURA REVISADA	5
Generalidades del cultivo de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	5
Origen.....	5
Clasificación taxonómica.....	6
Situación económica nacional de la producción de tomate en el país	6
Requerimientos nutricionales.....	7
Nanotecnología	7
Nanotecnología en la agricultura	9
Nanomateriales.....	11
Uso nanopartículas de elementos minerales	12

Síntesis de nanopartículas	14
Síntesis de nanopartículas de plata.....	14
Síntesis de nanopartículas de oro	15
Síntesis de Nanopartículas de cobre.....	15
Aplicación de nanopartículas de Cu en los cultivos.....	15
METODOLOGÍA	19
Ubicación del estudio.....	19
Desarrollo experimental	19
Nanopartículas utilizadas	19
Tratamientos con NPs de Cu.....	19
Variables evaluadas.....	20
Agronómicas	20
Contenido de compuestos bioactivos	20
DISEÑO ESTADÍSTICO	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
Efecto de la aplicación de nanopartículas sobre variables agronómicas.....	25
Efecto de la aplicación de Nps de Cu sobre pigmentos de la hoja.....	26
Efecto de la aplicación de nanopartículas sobre calidad de fruto	28
Efecto de la aplicación de nanopartículas en el contenido de compuestos bioactivos.....	29
CONCLUSIONES	31

REFERENCIAS.....32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Tomate variedad persistente.....	5
Figura 2: Escala nanométrica (Tomada de Staff, 2015).....	8
Figura 3: Aplicaciones potenciales de la nanotecnología y de las nanopartículas en la agricultura.....	9
Figura 4: Mecanismo de formación de nanopartículas de plata a partir de la reducción química en disolución de la sal AgNO ₃ . (Tomada de Monge, 2009).....	14
Figura 5: Conservación de muestras en nitrógeno líquido.....	20

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Comparación de medias realizadas a las variables agronómicas relacionadas al desarrollo y crecimiento del cultivo de tomate aplicando nanopartículas de cobre bajo condiciones de invernadero.....	26
Tabla 2: Comparación de medias realizadas para determinar el contenido de pigmentos en la hoja de tomate aplicando nanopartículas de cobre (ncu) bajo condiciones de invernadero.....	27
Tabla 3: Comparación de medias en variables de calidad de fruto evaluadas en las plantas de tomate.....	29
Tabla 4: Actividad de compuestos bioactivos evaluados en frutos de tomate.....	30

RESUMEN

La investigación se realizó en la U.A.A.A.N, ubicada en saltillo Coahuila, donde se estableció un cultivo de tomate tipo Saladette bajo condiciones de invernadero, con el objetivo de evaluar la aplicación de diferentes concentraciones de NPS de Cu para conocer su efecto en el crecimiento, contenido de pigmentos en hoja, calidad de fruto y contenido de compuestos bioactivos en el cultivo. Se hicieron aplicaciones foliares de dos diferentes concentraciones: 50 y 250 mg L⁻¹ de NPs de Cu más un testigo absoluto, se midieron variables como altura, diámetro del tallo, número de racimos, rendimiento, contenido de clorofilas a/b y totales, para las variables calidad de fruto, firmeza, sólidos solubles totales, pH, y ácidos titulable, de igual manera el contenido de compuestos bioactivos presentes en el fruto. El diseño experimental fue bloques completamente al azar con 18 repeticiones por tratamiento. Se observó que no hubo diferencias significativas en la mayoría de variables agronómicas, sin embargo en la variable de rendimiento el tratamiento con 250 mg L⁻¹ de NPS de Cu disminuyó en 10.05% en comparación con el testigo, en contenido de pigmentos en hoja no se presentaron diferencias significativas en las variables evaluadas. Para calidad de fruto se presentaron diferencias significativas en la variable de contenido de sólidos solubles totales en el tratamiento con 50 mg L⁻¹ de NPs de Cu con un valor del 1% en comparación con el testigo y en relación al contenido de compuestos bioactivos no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos lo que demuestra que la aplicación foliar de nanopartículas de cobre no interviene en la producción de compuestos bioactivos, si no que interviene en el proceso de fotosíntesis de las plantas aunque no forma parte de la composición de la clorofila.

Palabras clave: nanopartículas, compuestos, tomate, bioactivos.

DEDICATORIAS

A Dios por permitirme llegar hasta este punto de mi vida y haberme brindado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres

Sra. María Josefa Andrea Martínez Santiago gracias a ti mamá por ser la amiga y compañera que me ha ayudado a crecer, gracias por estar siempre conmigo en todo momento por el amor que me das, por tus cuidados, y por todos aquellos consejos que me das cada día para formarme como un hombre de bien, sobre todo por ser la mujer que me dio la vida y me enseñó a vivirla.

Sr. Eusebio Martínez Avelino Por ser mi ejemplo a seguir siempre has estado conmigo estoy orgulloso de ti, porque tú me has enseñado a tener el coraje para levantarte ante cualquier adversidad, por las enseñanzas que me has dado, y por darme todo el apoyo para poder lograr mi sueño, no tengo palabras para expresarte lo muy agradecido que estoy contigo me siento orgulloso de que seas mi padre muchas gracias papa.

Mis hermanos

Isidro Martínez por todo lo que hemos vivido juntos más que un lazo de sangre, nos une un sentimiento. Mi aprecio por ti es infinito, hermano.

Cecilia Martínez por todo tu apoyo, por ayudarme a emprender el vuelo por creer en mí y estar ahí cuando más lo necesite, tu que siempre has sido como una amiga para mí estoy agradecido por todos los consejos que me has dado te quiero.

A mis sobrinitos que ahora forman parte importante de mi familia Luis Fernando y Elia Lili.

*A mi cuñado **Luis Fernando Zepeda García** por formar parte de mis logros ya que contribuiste con tus consejos para poder lograr mi sueño.*

*A mi esposa **Erika Estrada García** por siempre apoyarme en cumplir mi sueño y por ser mi amiga, mi confidente y la persona que ha significado mucho en mi vida y con quien compartiré el resto de mi vida, y a ti mi amor que me has dado la alegría más grande de ser papa por primera vez. Te amo mi amor.*

*A toda la **familia Martínez** por sus palabras de aliento y las personas que me motivaron a superarme gracias.*

A todos mis amigos quienes siempre estuvieron conmigo desde el inicio de mi carrera hasta el final en buenos y malos momentos gracias por todo lo vivido amigos.

AGRADECIMIENTOS

*A mi **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** por ser mi segundo hogar donde se me dio la oportunidad de superarme y cumplir una meta más en la vida, es mi más grande orgullo formar parte de mi querida **ALMA MATER** y ser por siempre **BUITRE**.*

*Al Dr. **Antonio Juárez Maldonado** por permitirme trabajar parte de este proyecto de investigación y el honor de dirigir este trabajo profesional, también por el tiempo dedicado y por su comprensión.*

*A **Claudia Francely Cumplido Nájera** por todo el apoyo brindado en esta investigación y compartirme de sus conocimientos que me permitieron terminar satisfactoriamente esta tesis.*

A todos mis amigos y compañeros de la carrera, generación 2013-2017, por compartir grandes experiencias a lo largo de mi carrera profesional.

A mis compañeros del internado varonil en especial a mis amigos del dormitorio el Porfirio con los que viví mis inolvidables experiencias gracias por su amistad.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate es una hortaliza que se cultiva en grandes extensiones, de las cuales se obtienen importantes volúmenes de producción y que además participa de manera importante tanto en la economía nacional e internacional, aspecto que no podría lograrse sin calidad del fruto lograda en gran forma mediante la correcta nutrición (Pérez *et al*, 2017)

En los últimos años las nanopartículas de cobre (NPsCu) han sido de gran interés, ya que es un metal que cuenta con propiedades físicas y químicas. Además es considerado un micronutriente importante dentro de la planta debido a que tiene un importante papel biológico en el proceso de fotosíntesis de las plantas, a pesar de que no forma parte de la composición de la clorofila (Gómez, 2015). Esto tiene relación a la nanotecnología que trata sobre las diferentes estructuras de la materia con dimensiones del orden de una mil millonésima parte del metro (Poole y Owens, 2007). Lo cual permite manipular y modificar la materia en la escala nanométrica, atómica, molecular y macromolecular (Záyago y Foladori, 2010).

Martin, (2009) menciona que los orígenes de la nanotecnología se remontan a diciembre de 1959, en el instituto tecnológico de california, por Richard Feynman, quien obtuvo el premio nobel de física en el instituto de tecnología de california en Pasadena durante una conferencia con el sugerente título “Hay mucho espacio al fondo” (“There is plenty of room at the bottom”) donde puso los pilares de lo que más tarde se conocería como nanotecnología.

El término "nanotecnología" no describe a una sola técnica sino que engloba a una serie de tecnologías que operan a escalas de los componentes básicos de los materiales biológicos y manufacturados es decir, a "nanoescala". Por lo tanto se ha definido provisionalmente a la nanotecnología como toda tecnología relacionada con materiales, sistemas y procesos que operan a una escala de 100 nanómetros (nm) o menos. También los nanomateriales han sido

definidos como aquéllos que tienen una o más dimensiones que miden 100 nm o menos, o que tienen al menos una dimensión a esta escala que afecta el comportamiento y las propiedades de los materiales (Záyago y Foladori, 2010).

Estos avances evolucionarán a la agricultura y la industria alimentaria por la innovación de nuevas técnicas tales como: técnicas de agricultura de precisión, la mejora de la capacidad de las plantas para absorber los nutrientes, el uso de entradas, la detección de enfermedades y enfermedades de control más eficientes y específicas, de igual manera así poder soportar presiones ambientales y sistemas eficaces para el procesamiento, almacenamiento y envasado de los alimentos (Axelos y Voorde, 2016). Otros autores como Mata y Muñoz, (2016) describen que las nanopartículas metálicas cuentan con propiedades antimicrobianas y anti fúngicas, por lo que su uso en pesticidas resulta adecuado; por otra parte, cuando estos son utilizadas en mucho menor volumen también tienen características que las hacen micronutrientes, por lo que se emplean como fertilizantes que promueven el crecimiento de la planta.

Estudios realizados con el uso de nanopartículas arrojan resultados favorables como Ma, X *et al.* (2010), quienes demostraron que las nanopartículas de TiO_2 a concentraciones de $2.5\text{-}40\text{ g kg}^{-1}$ de suelo, mejoraron el crecimiento de la espinaca. Otros resultados con efectos no significativos. Doshi *et al.*, (2008), usaron nanopartículas de aluminio donde demostraron que no hubo efecto significativo en el cultivo de maíz, los estudios realizados en columnas de arena con concentraciones de hasta 17 mg L^{-1} . Y particularmente la presente investigación fue evaluar la aplicación de un fertilizante en forma de nanopartículas de cobre del genotipo de tomate tipo Saladette para determinar de que manera influye en el crecimiento y desarrollo del cultivo para así definir el incremento en parámetros de rendimiento y contenido de compuestos bioactivos de interés.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la aplicación de nanopartículas de Cu en tomate (*Solanum lycopersicum L.*), para determinar el efecto sobre el rendimiento y el contenido compuestos bioactivos en el fruto.

Objetivos específicos

- Evaluar la aplicación de diferentes concentraciones de NPs de Cu sobre el crecimiento y desarrollo en las plantas de tomate.
- Determinar los cambios en el contenido de compuestos bioactivos en los frutos de tomate.

HIPÓTESIS

La aplicación nanopartículas de Cu favorecerá el crecimiento de las plantas y el contenido de compuestos bioactivos en el fruto de tomate.

LITERATURA REVISADA

Generalidades del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)



Figura 1: Tomate variedad persistente.

El tomate *Solanum lycopersicum* L, pertenece a la familia de las solanáceas, es una planta herbácea anual o bianual, de origen centro y sudamericano. Actualmente se considera cosmopolita, ya que es cultivada para consumo fresco o industrializado y dentro de la horticultura mundial, este cultivo constituye uno de los rubros de mayor dinamismo. Dentro de la familia de las solanáceas esta planta puede tener diferentes hábitos de crecimiento, puede ser determinado o indeterminado y puede ser cultivada de diversas formas y la cosecha puede ser planificada según el objetivo, pudiendo encontrar producciones destinadas a procesos industriales o para consumo fresco siendo esta última la de mayor diversificación productiva (Torres *et al*, 2017).

Origen

El origen del género *Lycopersicum* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile, pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecería como mala hierba entre los huertos. Durante el siglo XVI se consumían en México tomates de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos, pero por

entonces ya habían sido llevados a España y servían como alimento en España e Italia (Infoagro, 2006).

Clasificación taxonómica

El tomate pertenece a la familia de las solanáceas junto con otros cultivos de importancia económica como el pimiento, la berenjena y la papa. El tomate fue clasificado por Miller (1754) como *Lycopersicon esculentum* y renombrado por Child (1990), Peralta y Spooner (2006) como *Solanum lycopersicum* (Diez y Núñez, 2008).

Pero en la actualidad muchos sistemáticos, para denominar al tomate cultivado se ha propuesto la adopción de la prolongadamente utilizada nomenclatura de *Solanum lycopersicum*, esto con el objetivo de evitar confusión en la nomenclatura.

Situación económica nacional de la producción de tomate en el país

Es uno de los cultivos más importantes de México y del mundo ya que además de su importancia económica es también fuente de vitaminas, minerales y antioxidantes, los cuales son fundamentales para la nutrición y la salud humana. México ocupa el décimo lugar a nivel mundial en superficie sembrada, por lo que constituye en nuestro país una de las hortalizas más importantes debido a la cantidad de empleos directos e indirectos que genera el cultivo y al número de divisas que ingresan al país por concepto de su comercialización (Sagarpa.,2015).

De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), la producción de tomate rojo en México creció a una tasa promedio anual de 3.3 por ciento entre 2005 y 2015, para ubicarse en un máximo volumen histórico de 3.1 millones de toneladas. Entre 2012 y 2015 se observó una mayor proporción de la superficie establecida de este cultivo con tecnologías de agricultura protegida (malla sombra e invernaderos), en promedio del 25 por ciento de la superficie total, en ese período la producción promedio se

ubicó en 2.88 millones de toneladas, es decir, un volumen 36 por ciento mayor que durante los cuatro años previos (FIRA, 2016).

Requerimientos nutricionales

Actualmente las dosis de fertilizantes en cuanto a la producción de tomate en México varían de una región a otra dependiendo sobre todo de la riqueza del suelo, del clima y del método de riego. No obstante, como regla general, la dosis de fertilizante se ajustará a las cantidades absorbidas por el cultivo. Dejando aparte las diferencias regionales, se considera que para la producción de 1 tonelada de tomate son necesarios:

2,2-2,7 kg de N

0,3-0,4 kg de P

2,5-3,2 kg de K

3,6-4,3 kg de Ca

0,3-0,6 kg de Mg

Este cálculo se ha realizado sobre la base del rendimiento y debe distribuirse según el tipo de fertilizante utilizado. Las temperaturas elevadas del suelo facilitan la absorción de nutrientes e influyen de modo fundamental sobre la precocidad y el rendimiento total, sin embargo no afectan a la cantidad de nutrientes absorbidos por tonelada de frutos, con la excepción del magnesio. Hay que señalar que la eliminación precoz, tanto de brotes laterales, como de hojas, reduce de forma considerable la absorción de fertilizantes como K, P y Mg (FAO, 2002).

Nanotecnología

Es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación, manejo, operación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas a nano escala (Figura 2). Esta tiene un gran potencial, ya que

puede mejorar la calidad de vida a través de sus aplicaciones en diversos campos como lo son la agricultura y la tecnología de los alimentos (Torres y García, 2016). Considerada como una tecnología emergente, promete un gran potencial para aplicaciones y beneficios que pueden contribuir a la economía y a la protección de la salud y el ambiente en el país, pero también presenta otros retos en cuanto a la infraestructura metrológica que se requiere para sustentar su desarrollo (Economía., 2017).

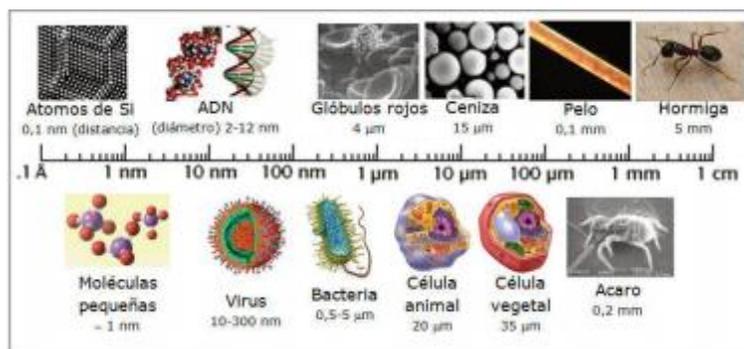


Figura 2: Escala nanométrica (Tomada de Staff, 2015).

Las aplicaciones de la nanotecnología (NT) en los sistemas agrícolas son diversas, ofreciendo el potencial para mejorar significativamente su productividad y eficiencia al reducir costos y cantidades de agroquímicos aplicados en los cultivos, incluyendo la fabricación de nanosensores, nanofertilizantes, nanopesticidas y nanoherbicidas. (Figura 3). Las nanopartículas (NPs) metálicas de óxido de zinc, cobre y fierro, ya sean puras o mezcladas con plata, están siendo estudiadas globalmente por su potencial agrícola como promotores de crecimiento, nanofertilizantes y antimicrobiales (Méndez *et al.*, 2016). Esta tecnología trata sobre las diferentes estructuras de la materia con dimensiones del orden de una millonésima parte del metro (Drexler, 1994). Otros autores mencionan que ha sido definida como toda aquella tecnología que se relaciona con nuevos materiales, sistemas y procesos que operan a una escala de 100 nanómetros (nm) o menos (Lugo *et al.*, 2010).

Cooppo, (2009). Afirma que las aplicaciones más prometedoras de la nanotecnología se relacionan con la producción agrícola, alimentos transgénicos, procesamiento de alimentos esto posee un gran potencial capaz de revolucionar la industria agroalimentaria. Por otra parte esta tecnología empieza a encontrar aplicaciones en el campo de la alimentación funcional, modificando moléculas biológicas por medio de ingeniería para proporcionarles funciones muy diferentes de las que tiene por naturaleza, recientemente los nano alimentos son alimentos que resultan de la utilización de técnicas o herramientas nanotecnológicas, nanopartículas, durante su cultivo o producido por nanomáquinas.

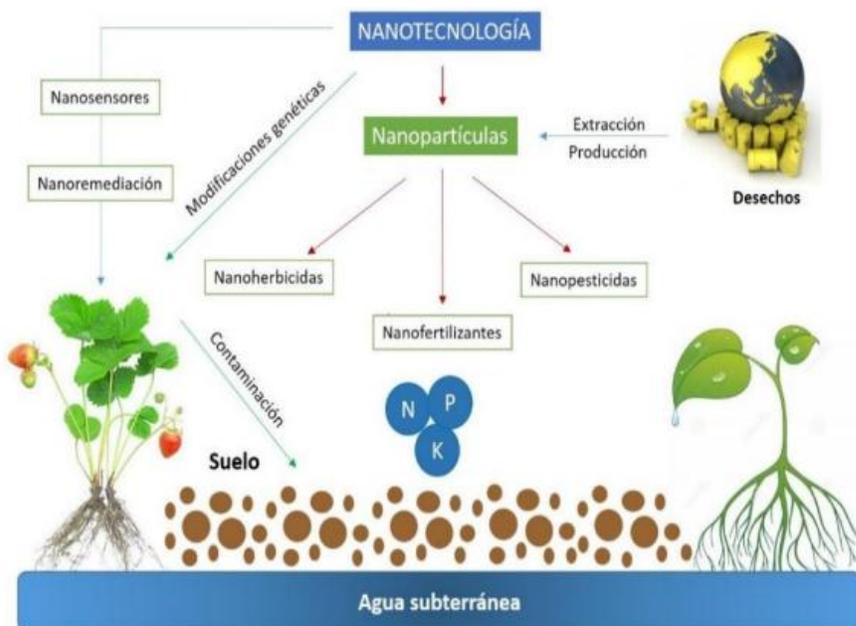


Figura 3: Aplicaciones potenciales de la nanotecnología y de las nanopartículas en la agricultura

Nanotecnología en la agricultura

La agricultura es un área donde las nuevas tecnologías se aplican para mejorar el rendimiento de los cultivos. El uso de las NPs puede tener soluciones concretas contra muchos de los problemas relacionados con la agricultura como el control de plagas de

insectos utilizando los métodos tradicionales, efectos adversos que provocan las sustancias químicas que contienen los pesticidas y la transferencia de genes mediada por NPs que sería útil para el desarrollo de variedades mejoradas en cultivos resistentes a plagas (Azeredo *et al*, 2009).

Lamas (2010), describe que en la agricultura ya se han llevado a cabo numerosos estudios, en los que se desarrollan herramientas para mejorar la capacidad de los cultivos en la absorción de los nutrientes del suelo, resistencia a las inclemencias del tiempo o las plagas etc. Esto ha permitido recientemente aumentar considerablemente las cosechas. Y en la alimentación, se están llevando a cabo métodos de detección de microorganismos perjudiciales para el ser humano, alimentos más saludables y nutritivos.

Respecto a la producción agrícola, la premisa básica es reducir al mínimo las pérdidas y disminuir los efectos adversos en el ambiente por el excesivo uso de insumos agrícolas (fertilizantes y plaguicidas). Además, si se considera que la reserva de materia prima para su producción de fertilizantes fosfatados ha disminuido, debido a la continua extracción que se ha hecho desde el inicio de la producción comercial, el uso eficiente de estos materiales de alta porosidad y estrategia a largo plazo beneficiara a la producción agrícola (Carrillo y González, 2009). Además de que la nanotecnología está introduciendo toda una nueva gama de plaguicidas, reguladores de crecimiento vegetal y fertilizantes químicos en la agricultura moderna (López y Soto, 2011).

Srilatha (2011), menciona que las nuevas tecnologías se aplican a menudo para mejorar el rendimiento de los cultivos. Siendo de esta manera que la nanoagricultura implica el empleo de nanopartículas en la agricultura estas partículas impartirán algunos efectos beneficiosos para los cultivos. La aparición de la nanotecnología y el desarrollo de nuevos nano dispositivos y nanomateriales abren posibles nuevas aplicaciones en la agricultura y la

biotecnología. Las nanopartículas son materiales que son suficientemente pequeñas como para estar dentro del rango nanométrico, con al menos una de sus dimensiones es inferior a unos pocos cientos de nanómetros. Estos materiales liberarían pesticidas o fertilizantes en un momento específico y ubicación de orientación. Las nanopartículas etiquetados a los agroquímicos u otras sustancias podrían reducir el daño a otros tejidos de la planta y la cantidad de productos químicos liberados en el medio ambiente.

Nanomateriales

Según la literatura se reporta que existen varias clases en las cuales se clasifican los nanomateriales o NPs (Klaine *et al*, 2008):

1. Materiales base a carbón: con formas esféricas, elipsoidales o tubulares. Sus propiedades fundamentales son su reducido peso y su mayor dureza, elasticidad y conductividad eléctrica.

2. Materiales de base metálica: estos pueden ser *quantum dots* (puntos cuánticos o transistores de un solo electrón) entre los cuales nanopartículas de oro, plata, cobre o de metales reactivos como el dióxido de titanio, entre otras.

3. Nanocristales semiconductores: también conocidos como puntos cuánticos. Los puntos cuánticos (QD) tienen un núcleo reactivo que controla sus propiedades ópticas, y estos núcleos pueden estar hechos de metales o semiconductores como seleniuro de cadmio (CdSe), telururo de cadmio (CdTe), CdSeTe, fosfuro de indio (InP) o zinc seleniuro (ZnSe). Hasta la fecha se utiliza principalmente en aplicaciones médicas y terapias específicas, el uso de QD se está extendiendo para incluir células solares y fotovoltaicas, tintas de seguridad y fotónica y telecomunicaciones.

4. Compuestos: combinan ciertas nanopartículas con otras o con materiales de mayor dimensión; el caso de arcillas nano estructuradas es un ejemplo de uso extendido.

A pesar de que las posibles aplicaciones de la NT son vastas, los usos actuales relacionados en el sector alimentario son relativamente pocas, debido a que la nano ciencia se encuentra en un estado emergente. Se tiene una visión general de más de 800 productos de consumo basados en nanotecnología que están, actualmente disponibles a nivel mundial, se dice que solo un porcentaje del 10% de ellos son alimentos, bebidas y productos para el envasado de alimentos. Sin embargo, los productos y aplicaciones derivadas de la nanotecnología en estos sectores han ido en constante aumento en los últimos años y se prevé un aumento a futuro.

Lövestam, (2010) menciona que en el régimen a nano escala en algunos de los materiales exhiben características adicionales o pueden tener diferentes propiedades en comparación con los materiales más gruesos con composición química similar. Estos materiales son ahora utilizados en una amplia gama de tecnología innovadora en aplicaciones y productos, incluidos muchos consumidores de los productos finales. Si bien hoy en día hay muchas nanotecnologías de productos que se introducen en el mercado, es también una considerable falta de conocimiento sobre los efectos biológicos y el impacto ambiental de los nanomateriales. Esto ha desencadenado un aumento en el esfuerzo mundial para comprender el posible impacto de los nanomateriales en la salud humana y la ambiente. Hasta la fecha hay evidencia limitada del daño real resultante del uso de nanomateriales, sin embargo, hay una aceptación común de que esta es una posibilidad y que efectivamente existe una necesidad para más investigación.

Uso nanopartículas de elementos minerales

Las nanopartículas específicamente han existido en el planeta por siglos, algunos ejemplos son las partículas de humo y las nanopartículas dentro de una bacteria, las nanopartículas

metálicas en particular poseen propiedades interesantes con aplicaciones en diversas áreas tecnológicas.

En cuanto a los efectos de las nanopartículas metálicas en plantas se reporta un mayor porcentaje de germinación, tasa de crecimiento, biomasa de raíz y brotes y aumento en parámetros fisiológicos como las actividades fotosintéticas y metabolismo del nitrógeno en muchos cultivos (Moghadam *et al*, 2015).

Pullit *et al*, (2011). Utilizo una solución de plata nanomolecular obteniendo como resultado reducir la incidencia de enfermedades de la raíz. Estos ejemplos demuestran que el uso de una solución de nanoplata coloidal puede mejorar considerablemente el crecimiento y la salud de varias plantas.

Prasad *et al*, (2012), Realizaron un experimento con semillas de cacahuete que fueron tratadas por separado con diferentes concentraciones de óxido de zinc a nanoescala (ZnO) y suspensiones de quelatos de sulfato de zinc a granel (ZnSO₄), respectivamente, se estudió el efecto sobre la germinación de semillas, vigor de las plántulas, crecimiento de las plantas, la floración, el contenido de clorofila, rendimiento de vainas y el crecimiento de las raíces. Los tratamientos con nanopartículas de ZnO de 25 a 1000 ppm de concentración promovieron tanto la germinación como el vigor de las plántulas y a su vez mostraron pronto establecimiento en el suelo que se manifestó por la floración temprana y mayor contenido de clorofila en las hojas. Estas partículas han demostrado su eficacia en el aumento de crecimiento del tallo y la raíz. El rendimiento de vainas por planta fue 34% mayor en comparación con el tratamiento ZnSO₄. El experimento se llevó a cabo en campo con aplicación foliar.

Síntesis de nanopartículas

Alvarenga (2013), explica que se han descrito diferentes metodologías para sintetizar nanopartículas, por lo que el método utilizado influye en la forma y tamaño de las mismas. La síntesis de nanopartículas metálicas, se ha puesto mucho énfasis en el control del tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura, puesto que las propiedades intrínsecas de las nanoestructuras metálicas dependen de estas variables.

De manera general, la síntesis de nanopartículas metálicas en disolución se lleva a cabo mediante el empleo de tres componentes que son: i) precursor metálico; ii) agente reductor; iii) agente estabilizante.

Síntesis de nanopartículas de plata

El mecanismo de formación de las disoluciones coloidales a partir de la reducción de iones plata consta de dos etapas diferentes: nucleación y crecimiento. El proceso de nucleación requiere una alta energía de activación mientras que el proceso de crecimiento requiere una baja energía de activación. El tamaño y la forma de las nanopartículas dependerá de las velocidades relativas de estos procesos que pueden ser controladas a través de la modificación de los parámetros de reacción, concentración, temperatura, pH, poder reductor, etc. (Figura 4) (Monge, 2009).

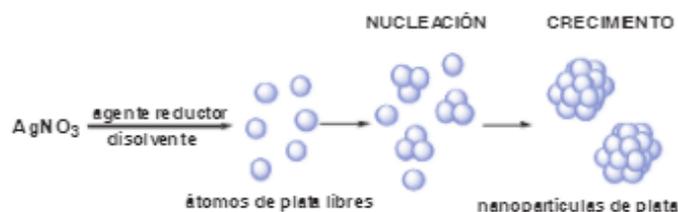


Figura 4: Mecanismo de formación de nanopartículas de plata a partir de la reducción química en disolución de la sal AgNO_3 . (Tomada de Monge., 2009).

Síntesis de nanopartículas de oro

En la síntesis de nanopartículas de oro se ha utilizado el método de Turkevich, que consiste en usar ácido cloroáurico HAuCl_4 y citrato de sodio como agente reductor. Este método fue variado por Akbarzadeh *et al.* (2009), en este caso se calienta 10 mL de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ hasta el punto de ebullición manteniendo en agitación, mientras se agrega 15 mL del agente reductor. Se continua calentando hasta que el color de la solución cambie a rosado. Para mantener la solución se agrega 3 mL de Polietilenglicol 1000 al 3.3% una vez que esta se encuentre a temperatura ambiente. Por este método se obtuvieron nanopartículas en un rango de 10 a 25 nm.

Síntesis de Nanopartículas de cobre

Para sintetizar este tipo de nanopartículas se toma una alícuota de 100 ml de una solución acuosa de sulfato de cobre CuSO_4 ($2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), se mantiene en agitación mientras se le agrega 1ml de borohidruro de sodio NaBH_4 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) frío. Previo a esto la solución de CuSO_4 , es tratada con N_2 para eliminar el oxígeno disuelto. La formación de nanopartículas es confirmada por un cambio de la solución de incoloro a amarillo. Además, de análisis con espectrofotómetro en los que la solución da mayor absorbancia en 500 nm y de acuerdo a las observaciones utilizando TEM, se obtienen nanopartículas de tamaños entre 4 a 6 y 9 a 12 nm.

Aplicación de nanopartículas de Cu en los cultivos

El cobre es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Yu *et al.*, 2014). Marschner (1995), describe que el cobre actúa como un elemento estructural en proteínas reguladoras y participa en el transporte de electrones fotosintéticos, respiración mitocondrial, respuestas de estrés oxidativo, metabolismo de la pared celular y señalización hormonal.

En lo particular ha sido de gran interés por que a diferencia de otros metales antimicrobiales, presenta un amplio espectro de acción contra las bacterias y hongos. La eficacia del cobre depende de las condiciones del medio ambiente, la concentración de iones de cobre y el tipo de microorganismos. Por lo cual dada su efectividad contra organismos patógenos asociados con enfermedades de plantas y animales, ha sido utilizado ampliamente en el sector agropecuario como pesticida desde hace ya años atrás y actualmente se utiliza como promotor de crecimiento vegetal (Jaiswal *et al*, 2012).

El cobre es un micronutriente, esto significa que el contenido de Cu en las plantas es menor que el de otros nutrientes como el nitrógeno (N). Las plantas contienen 2,500 veces menos Cu que N y aun así el Cu es tan necesario para el crecimiento como lo es el N. Las plantas necesitan el Cu para completar su ciclo de vida, es decir para producir semillas viables. Y en la fotosíntesis la producción de hidratos de carbono a partir de luz solar, aire y agua es uno de los procesos químicos más importantes en el mundo. Es la única forma de aportar energía al mundo viviente. Sin Cu, no habría fotosíntesis ya que este nutriente es necesario para la formación de clorofila el material que le da su color verde a las plantas y que les permite absorber la luz solar utilizada durante la fotosíntesis. Este elemento promueve la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), en forma enzimática y no enzimática (a través de la reacción de Fen-ton), las cuales pueden causar la oxidación de proteínas y lípidos, alterar la integridad de las membranas, la fotosíntesis, el crecimiento e inducir la muerte celular. Entre los mecanismos bioquímicos de defensa que se inducen en respuesta al daño oxidativo causado por cobre está el incremento de las actividades de enzimas antioxidantes tales como catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa, ascorbato y guaiacol peroxidasa. Algunos estudios indican que metabolitos secundario antioxidantes

como ácidos fenólicos, poliaminas y flavonoides también podrían estar involucrados en contrarrestar el daño por oxidación generado por cobre (León y Sepúlveda, 2012).

Vázquez *et al.*, (2010) demostró que el efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de nCu: 0.02, 0.2, 0 y 10mg L⁻¹ introducidas en Quitosan sobre el crecimiento y contenido de licopeno en tomate bajo invernadero, en donde incremento el rendimiento con 10 mg L⁻¹ nCu + Q alcanzando un aumento del 17% más por planta en relación al testigo, el tratamiento a base de Quitosan generó un desempeño favorable comparado con los que contenían nCu y en cuanto al contenido de licopeno no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos que contenían nCu, sin embargo en comparación con el testigo en todos se observó un mayor incremento.

Por otra parte Trujillo *et al.* (2014), Realizo un estudio en lechuga (*Lactuca sativa*) donde se evaluaron plántulas de lechuga de 18 días en un medio hidropónico y fueron tratadas durante 15 días con nanopartículas de Cu y CuO a una concentración de 10 y 20 mg/L⁻¹, se determinaron los micro y macronutrientes, el evaluó de clorofila, crecimiento de las plantas, las actividades de la catalasa (CAT) y ascorbato peroxidasa (APX).

Los resultados mostraron que las nanopartículas de Cu reducen el contenido de agua, longitud de la raíz, y la biomasa seca de las plantas de lechuga. Los tratamientos con nanopartículas de Cu y CuO produjeron significativa acumulación de Cu en las raíces, todos los tratamientos de Cu incrementaron la actividad enzimática de catalasa (CAT) y disminuyeron la actividad de ascorbato peroxidasa (APX), los tratamientos alteraron la calidad nutricional, ya que las plantas tratadas tuvieron significativamente más Cu, Al y S pero menos Mn, P, Ca, y Mg.

También se demostró el efecto de las nanopartículas de óxido de cobre (II) (NPs CuO) en el crecimiento, la fotosíntesis y la respuesta antioxidante de arroz (*Oryza sativa* var. Jyoti).

Los resultados fueron que la tasa de germinación, la longitud de la raíz y la biomasa disminuyeron, mientras que la absorción de Cu en las raíces y brotes aumentó a altas concentraciones de NPs de CuO. La tasa fotosintética, tasa de transpiración, conductancia estomática y contenido de pigmentos fotosintéticos disminuyeron a 1000 mg/L⁻¹ de nanopartículas de óxido de cobre, también se observó la expresión elevada de ascorbato peroxidasa y superóxido dismutasa, enzimas que forman parte de los compuestos antioxidantes (Da-Costa y Sharma, 2015).

METODOLOGÍA

Ubicación del estudio

El presente estudio se realizó en un invernadero tipo túnel, ubicado en el Departamento de Botánica en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila, México (coordenadas 25 ° 21' 5 "de latitud norte y 101 ° 1'47" de longitud oeste, a una altitud de 1.742 msnm).

Desarrollo experimental

El experimento se desarrolló con semillas de tomate tipo saladete con crecimiento indeterminado de la variedad "persistente", estas fueron colocadas en bolsas de polietileno negras con capacidad de 10L, con una mezcla de peat moss y perlita 50:50 (v/v). Durante el desarrollo estas fueron manejadas a un solo tallo con labores culturales correspondientes, como medio de nutrición se utilizó una solución nutritiva Steiner (Steiner, 1961) mediante un sistema de riego dirigido.

Nanopartículas utilizadas

El material que se utilizó en los tratamientos fueron nanopartículas de cobre de 42 nanómetros determinadas por rayos X de forma esférica y sintetizadas por el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) ubicado en Saltillo, Coahuila.

Tratamientos con NPs de Cu

Se determinaron tres tratamientos que fueron evaluados con aplicaciones foliares, con aplicaciones cada 14 días iniciando al momento de la floración, esto 4 semanas después del trasplante, a continuación se describe cada uno de los tratamientos:

1. Tratamiento 1 Testigo absoluto (solo agua).
2. Tratamiento 2 con 50 mg L⁻¹ de NPs de Cu.
3. Tratamiento 3 con 250 mg L⁻¹ de NPs de Cu.

A los 124 días después de trasplante se cosecharon los frutos y se realizaron las siguientes determinaciones de variables agronómicas y compuestos de interés.

Variables evaluadas

Agronómicas

En este estudio se determinó la dosis de mg L^{-1} de NPs de Cu en el cual se obtuvieran los mejores resultados en cuanto a las variables agronómicas evaluadas en las plantas, como la altura de la planta en la cual se consideró desde el primer par de hojas verdaderas al ápice, se midió con una cinta métrica, para los racimos se consideraron los cosechados, el diámetro del tallo se tomó a la altura del primer par de hojas verdaderas y la variable rendimiento se evaluó con una cosecha, obteniendo el peso promedio de frutos (g/planta).

Contenido de compuestos bioactivos

Se llevó a cabo a los 93 días después del trasplante, tomando 5 repeticiones por tratamiento para los análisis, las hojas se cortaron e introdujeron inmediatamente a nitrógeno líquido (Figura 5) para transportarlas y guardarlas en un ultra congelador a una temperatura de -80°C hasta el momento de ser usadas para la determinación de contenido de clorofilas a/b y totales.

En el caso de los frutos se realizó un muestreo a los 124 días después del trasplante se cortaron 5 repeticiones por tratamiento y se colocaron los frutos en hielo para ser llevados a un congelador para posteriormente determinar contenido de vitamina C, licopeno, fenoles totales, flavonoides, sólidos solubles totales, conductividad eléctrica, pH y firmeza.



Figura 5: *Conservación de muestras en nitrógeno líquido.*

Contenido de vitamina C: se determinó por el método de titulación con 2,6 diclorofenolindofenol (Padayatt *et al*, 2001).

Se pesaron 10 g de peso fresco de fruto que fue macerado en un mortero con 10 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 2% (v/v). Se macero perfectamente la “cascara” del fruto con la intención de liberar todo el contenido de vitamina C. Se filtró el homogeneizado a través de una gasa absorbente estéril sobre un matraz de aforación. Se Aforo a 100 mL con agua destilada. Tomando una alícuota de 10 mL del filtrado. Se tituló con 2-6 diclorofenolindofenol hasta obtener una coloración rosácea persistente.

La cuantificación del contenido de vitamina C se realizó con la siguiente ecuación:

$$\text{Vit. C} = (\text{mL utilizado de 2-6 diclorofenolindofenol} * 0.088 * \text{volumen total} * 100) / (\text{volumen alícuota} * \text{peso de muestra})$$

Contenido de licopeno: Se determinó mediante la metodología citada por Fish *et al*, (2002).

Se pesó 1 g de muestra fresca y coloco sobre un mortero frío (el cual contenía 3 mL de amortiguador de fosfatos, pH 7) y se macero. Se tomaron 0.7 mL del macerado que se colocó en un tubo eppendorf de 2 mL. Se le agrego 1.3 mL de mezcla Hexano-Acetona (3:2) se agito por 10 segundos en vórtex, posteriormente se centrifugo a 3000 rpm durante 10 min a 2°C. Donde se extrajo la parte coloreada que fue leída en absorbancia a 502 mL.

Los resultados fueron obtenidos mediante

$$\text{Licopeno (mL/100g)} = -0.0458 x A663 + 0.204x A645 + 0.372 x A505 - 0.0806 x A453$$

Los resultados se expresan en mg/100g de peso fresco (PF).

Flavonoides Totales (FT): Se realizó por el método Dowd, adaptado por Arvouet-Grand *et al.*, (1994). En un tubo de ensaye se colocó 0.1 g de tejido liofilizado, enseguida se le agregó 10 mL de metanol, obteniendo una mezcla homogénea y se filtró con papel filtro

Whatman N°1. Se colocaron 2 mL del filtrado en un tubo de ensayo limpio, se agregó una solución de tricloruro de aluminio (AlCl_3) al 2% en metanol y se dejó reposar durante 20 minutos en obscuridad. Posteriormente con una celdilla de cuarzo se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 415 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. El contenido total de flavonoides fue determinado usando una curva de calibración con quercetina (0 - 50 ppm) en metanol, los resultados fueron expresados en miligramos Equivalentes de Quercetina por 100 gramos de peso seco ($\text{mg EQ } 100 \text{ g}^{-1} \text{ PS}$).

Solidos solubles totales: se determinó con un refractómetro digital, que proporciono el contenido de azúcar en unidades Brix de porcentaje de concentración.

Clorofilas a/b y totales: Se tomó tejido de hoja fresco, estimando el contenido por el método propuesto por Arnen (1949) modificado por Munira *et al.*, 2015:

Se pesó un gramo de hoja fresco, se homogeneizo en mortero y se agregaron 5 mL de acetona al 90%, para estabilizar y proteger las clorofilas, se agregó una pizca de carbonato de magnesio, de la mezcla homogeneizada se tomaron 2 mL y se puso en un tubo de 2 mL, los tubos se centrifugaron a 10000 rpm a 4°C durante 5 minutos, se extrae el sobrenadante y se realizan lecturas en el espectrofotómetro a 663 nanómetros para clorofila a, y 645 para clorofila b, introduciendo primeramente un blanco para calibrar el espectrofotómetro con solamente acetona al 90%.

El contenido total de clorofila se expresará en mg/g y será determinado usando las siguientes formula

$$\text{Clorofila a} = 25.38 * A_{663} + 3.64 * A_{645}$$

$$\text{Clorofila b} = 30.38 * A_{645} - 6.58 * A_{663}$$

$$\text{Clorofila total} = 18.8 * A_{663} + 34.02 * A_{645}$$

Compuestos fenólicos Totales: Se realizó según la metodología propuesta por Yu y Dahlgren (2000). Para iniciar con la extracción se colocaron 200 mg de tejido liofilizado en un tubo de 2 mL, se le agregó 1 mL de solución agua: acetona (1:1), se agitó en vórtex por 30 segundos y se sonó por 5 minutos. A continuación se centrifugó a 12500 rpm por 10 min a 4°C, se recuperó el sobrenadante (extracto) el cual se almacenó a 4 °C hasta su uso. La cuantificación se realizó según Nsor-Atindana et al., (2012), para lo cual se tomaron 50 mg del extracto y se colocaron en un tubo de ensayo, se adicionaron 200 mg de reactivo Folin-Ciocalteu (FCR), 500 mg de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20% y 5 mL de agua destilada, se agitó en vórtex durante 30 segundos y enseguida se colocaron las muestras en baño maría a 45°C por 30 minutos. Se determinó absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a 750 nm con una celdilla de plástico, como blanco se usó una mezcla con todos los reactivos arriba mencionados, cambiando los 50 mg del extracto por 50 mg de una solución agua: acetona (1:1). Las absorbancias fueron interpoladas en la ecuación obtenida de la curva de calibración con ácido gálico (1-12.5 ppm), los resultados fueron expresados en miligramos Equivalentes de Ácido Gálico por 100 gramos de peso seco (mg EAG 100 g⁻¹ PS).

Flavonoides Totales: Se realizó por el método Dowd, adaptado por Arvouet-Grand et al., (1994). En un tubo de ensayo se colocaron 0.1 g de tejido liofilizado, enseguida se le agregó 10 mL de metanol, se homogenizó y filtró la mezcla con papel filtro Whatman N°1. Se colocaron 2 mL del filtrado en un tubo de ensayo limpio, se agregó una solución de tricloruro de aluminio (AlCl_3) al 2% en metanol y se dejó reposar durante 20 minutos en obscuridad. Posteriormente con una celdilla de cuarzo se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 415 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. El contenido total de flavonoides fue determinado usando una curva de calibración con quercetina (0 - 50 ppm) en metanol, los resultados fueron expresados en miligramos Equivalentes de Quercetina por 100 gramos de peso seco (mg EQ 100 g⁻¹ PS)

DISEÑO ESTADÍSTICO

La unidad experimental fue una planta por maceta. Para las variables agronómicas (altura de la planta, número de racimos, diámetro del tallo y rendimiento) se tomaron 18 unidades experimentales por cada tratamiento, y considerando tres tratamientos. En el caso de las variables bioquímicas y de calidad de fruto se consideraron cinco repeticiones por tratamiento. Para el desarrollo del experimento se utilizó un diseño completamente al azar y para detectar la existencia de diferencias estadísticas entre tratamientos se realizó un ANOVA, adicionalmente se efectuó una prueba de separación de medias según LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Todos los análisis estadísticos se trabajaron en el software estadístico (InfoStat., v2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la aplicación de nanopartículas sobre variables agronómicas

Los resultados evaluados en variables agronómicas son presentados en la (Tabla 1). En los cuales se pudo observar que las aplicaciones de NPs de Cu no indujo cambios significativos en la altura de la planta, excepto en el tratamiento tratado con 250 mg L⁻¹ de NPs de Cu, donde se observó que se reduce ligeramente la altura en las plantas, por lo que se cree que las NPs de Cu pudieron causar un ligero estrés en la planta. Por otra parte estos resultados obtenidos son similares a los reportados por Juárez-Maldonado *et al.*, (2015), donde obtuvieron que las NPs de Cu absorbidas en hidrogeles de quitosán a una concentración de 0.06 g/L⁻¹ en plantas de lechuga, presentaron diferencias significativas en cuanto a la altura de las plantas en relación con el testigo.

En cuanto a número de racimos y diámetro de tallo no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo en el tratamiento tratado con 250 mg L⁻¹ de NPs de Cu se observó una diferencia numérica en comparación con el testigo, esto se podría atribuir con lo reportado por Juárez-Maldonado *et al.*, (2017) quienes mencionan en un estudio que las aplicaciones de NPs de Cu en hidrogeles de quitosán a una concentración de 0.015 y 0.006 mg L⁻¹ obtuvieron como resultado un incremento en el diámetro del tallo en comparación con el testigo en 6.5-14% respectivamente.

Lo que demuestra que no hubo toxicidad al exponer las plantas a concentraciones de nanopartículas de cobre. Algunos autores mencionan que el efecto promotor o inhibidor del crecimiento de las NPs en las plantas está relacionado con su concentración, tamaño y las propiedades inherentes del elemento involucrado, así como la función fisiológica y bioquímica que desempeñan en la planta, y si actúa como micronutriente tratándose de cobre, zinc, etc. (Wang *et al.*, 2015).

En cuanto a la variable de rendimiento se observó una tendencia negativa en el peso de frutos por planta con la aplicación de NPs de Cu, donde la dosis más alta (250 mg L⁻¹ de NPs de Cu) generó una disminución del 10% en comparación con el testigo esto se podría relacionar con lo mencionado por (Hong *et al.*, 2015), quien afirma que la aplicación de cobre en alta concentración afecta el crecimiento de los cultivos, dicho elemento genera ROS directamente en los tejidos a través de la reacción de Fenton, inhibiendo principalmente el crecimiento de la raíces por lo tanto se limita el alcance de nutrientes y se ve reflejado en el crecimiento de las plantas.

Tabla 1: Comparación de medias realizadas a las variables agronómicas relacionadas al desarrollo y crecimiento del cultivo de tomate aplicando nanopartículas de Cobre bajo condiciones de invernadero.

Tratamiento	AP(cm)	NR	DT(mm)	R(g)
T0	127.96a	4.94 ^a	11.70a	1887.09a
50 mg L ⁻¹ de NPs de Cu	127.63a	4.96 ^a	12.02a	1856.70ab
250 mg L ⁻¹ de NPs de Cu	126.48a	4.94 ^a	12.07a	1697.55 b

AP: altura de la planta. NR: número de racimos. DT: diámetro del tallo. R: rendimiento. (Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según LSD, $p \leq 0.05$).

Efecto de la aplicación de Nps de Cu sobre pigmentos de la hoja

Los resultados para la evaluación de pigmentos en hoja son presentados en la (Tabla 2). En donde se demuestra que no existen diferencias significativas en contenido de clorofila a, clorofila b y clorofilas totales, estos resultados son relacionados a los obtenidos por Sharma y Uttam (2017) en su investigación donde aplicaron NPs de CuO y no observaron cambios

positivos en el contenido de clorofilas, argumentando que es porque existe una cantidad excesiva de ROS que desencadena en toxicidad y muerte de las plantas, mientras que en esta investigación se confirma que las concentraciones aplicadas de NPs de Cu no inducen estrés oxidativo y solo se estimula el sistema antioxidante, y las ROS generadas. Contrario a la investigación realizada lo descrito por Pradhan *et al.*, (2015) Quienes comprobaron que hay un mayor aumento en el contenido de clorofila en plantas de frijol chino (*Vigna radiata*) tratadas con NPs de Cu con dosis de hasta 1 mg/L^{-1} , además mencionan que el Cu interfiere con la biosíntesis de la maquinaria fotosintética modificando las composiciones de pigmentos y proteínas de la fotosíntesis. Por otra parte Fernández *et al.*, (1991) explican que las plantas deficientes en Cu como en las de mayor consumo, un cambio en contenido de clorofila (Chl) altera la estructura del cloroplasto y composición de la membrana tilacoide en hojas de espinaca, arroz, trigo y frijol en condiciones de crecimiento experimental.

Tabla 2: Comparación de medias realizadas para determinar el contenido de pigmentos en la hoja de tomate aplicando nanopartículas de Cobre (nCu) bajo condiciones de invernadero.

<i>Tratamiento</i>	<i>CLA</i>	<i>CLB</i>	<i>Clorofilas totales</i>
<i>T0</i>	<i>2.42 a</i>	<i>2.35a</i>	<i>4.77 a</i>
<i>50 mg L⁻¹ de NPs de Cu</i>	<i>2.43 a</i>	<i>2.55a</i>	<i>5.01 a</i>
<i>250 mg L⁻¹ de NPs de Cu</i>	<i>2.60 a</i>	<i>2.66a</i>	<i>2.24a</i>

CLA: clorofila A (mg/g). CLB: clorofila B (mg/g). Clorofilas totales (mg/g). (Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según LSD, $p \leq 0.05$).

Efecto de la aplicación de nanopartículas sobre calidad de fruto

Los resultados de esta investigación relacionada con las variables calidad de fruto son mostrados en la (Tabla 3). Donde se observó que no existe diferencias significativas en las variables como firmeza, pH, conductividad eléctrica y acidez titulable, contrario a la variable de contenido de sólidos solubles totales importantes en la determinación de la calidad de la fruta, por lo tanto es un parámetro indicativo de la cantidad de azúcares existentes en la fruta (Detoni *et al.*, 2005).

Los mayores valores de sólidos solubles totales obtenidos mediante un análisis de varianza, se presentaron en el tratamiento tratado con 50 ppm de las NPs de Cu donde se presentó una diferencia significativa en comparación con el tratamiento tratado con 250 ppm de NPs Cu y el testigo con un incremento del 22.34 % respectivamente en comparación con los tratamientos, estos resultados son similares a los reportados por Hernández *et al.*, (2017). Quienes comprobaron que la aplicación a una concentración de 0,02 mg de nanopartículas de cobre en hidrogeles de quitosán PVA incrementa significativamente el contenido de sólidos solubles totales un 11% aproximadamente en frutos de tomate.

Otros resultados también significativos reportados por Pinedo-Guerrero *et al.*, (2017) Donde hicieron aplicaciones de Nps de cobre en Hidrogeles de quitosán-PVA obteniendo como resultado que la aplicación de 2.0 mg de NPS de Cu en los hidrogeles incrementa el contenido de sólidos solubles totales con valores de 4.80 y 6.37 ° Brix, hicieron análisis a los 0 y 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

Tabla 3: Comparación de medias en variables de calidad de fruto evaluadas en las plantas de tomate.

Tratamientos	Firmeza	SST	pH	CE	AT
T0	3.75a	3.20 b	4.13a	3.13a	30.39 a
50 mg L ⁻¹ de NPs de Cu	5.06a	4.68 a	4.12a	2.61a	33.14 a
250 mg L ⁻¹ de NPs de Cu	3.33a	3.17 b	4.04a	3.56a	34.82 a

Firmeza Kg/cm². SST: solidos solubles totales °Brix. CE: conductividad eléctrica (dS/m). AT: acidez titulable (% Ac. Cítrico). (Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según LSD, p≤0.05).

Efecto de la aplicación de nanopartículas en el contenido de compuestos bioactivos

Los resultados obtenidos del contenido de compuestos bioactivos son exhibidos en la (Tabla 4). En los que se observó que en la variable licopeno no existen diferencias significativas entre tratamientos sin embargo en los tratamientos tratados con 50ppm y 250 ppm de NPs de Cu se observó una diferencia numérica en comparación con el testigo, en el cual no representa una diferencia estadística, contrario a esta investigación lo reportado por Juárez-Maldonado *et al.*, (2016). Quienes realizaron aplicaciones de nCu-quitosano hidrogel a una concentración de 0.006 mg nCu L⁻¹. En donde el resultado fue un incremento en el contenido licopeno de aproximadamente 12% después de aplicar el hidrogel nCu-quitosano en comparación con el testigo.

Rivera *et al.*, (2017) Demostró que la aplicación de 10 mg de NPs de Cu en 1 g de hidrogeles de quitosán-PVA para el cultivo de tomate incrementó el contenido de licopeno en un 44%, mientras que la aplicación de solo quitosán-PVA presentó un aumento del 6.64% ambos superiores al testigo. Por otra parte Wang (2014), investigo la Fito toxicidad de las

nanopartículas de óxido de cerio (CeO^2 -NPs) y de las nanopartículas de óxido de titanio (TiO^2 -NPs) en el crecimiento de las plantas de tomate por separado, así como los efectos causado por la exposición a la combinación de los dos tipos de nanopartículas, obtuvieron en los resultados que la aplicación de las nanopartículas de óxido de cerio (CeO^2 -NPs) colocadas en suelo seco previo a la exposición del cultivo a concentraciones de 45 y 40 mg/kg, seguido de la incorporación al sistema de riego de 1000 mg/L^{-1} de nanopartículas de óxido de titanio (TiO^2 -NPs), esto en pos tratamiento aumentaron las actividades de proteínas antioxidantes en comparación con los tratamientos de CeO^2 -NPs y TiO^2 -NPs por separado. En las variables vitamina C, flavonoides, no se vieron afectados por la aplicación de NPs de Cu ya que no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos. En el contenido de fenoles totales, el tratamiento tratado con 250 mg L^{-1} fue superior en comparación con el testigo sin embargo no existe diferencia estadística entre tratamientos y en contenido de β -caroteno también se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos, sin embargo ninguno superó al testigo absoluto

Tabla 4: Actividad de compuestos bioactivos evaluados en frutos de tomate.

Tratamiento	Licopeno (mg/g)	VC	FT	Flavonoides	β -Carotenos
T0	0.03a	25.69a	17.35a	2.37a	0.07a
50 mg L^{-1} de NPs de Cu	0.04a	22.00	18.0a	2.52a	0.05 b
250 mg L^{-1} de NPs de Cu	0.04a	24.81a	20.81	2.54a	0.05 b

Licopeno en mg/100g de peso fresco., VC: vitamina c (mg/g p.f). FT: fenoles en hoja mg EQ de ácido gálico g de PS., Flavonoides: miligramos EQ de Quercentina/ g de peso seco.*

CONCLUSIONES

La aplicación de NPS de Cu no intervienen de manera directa en el desarrollo de las plantas de tomate ya que no se presentaron diferencias en variables agronómicas evaluadas entre los tratamientos, sin embargo, a una dosis alta si hubo una disminución del rendimiento que se le puede atribuir al ROS y una reacción fenton que inhibe el crecimiento de raíces limitando el alcance de nutrientes.

El uso de diferentes dosis de NPs de Cu no afecta el contenido de pigmentos presentes en hojas de plantas de tomate.

La aplicación de dosis medias de NPs de Cu estimula la concentración de sólidos solubles presentes en frutos de tomate, ya que en dosis altas pueden no ser favorable en la síntesis de compuestos bioactivos de interés.

El uso de las NPs de Cu se puede orientar más a control de enfermedades de origen fúngico, ya que cabe mencionar que durante esta investigación no se presentaron enfermedades fúngicas.

REFERENCIAS

- Akbarzadeh, A., Zare, D., Farhangi, A., Mehrabi, M. R., Norouzian, D., Tangestaninejad, S., & Bararpour, N. (2009). Synthesis and characterization of gold nanoparticles by tryptophane. *American Journal of Applied Sciences*, 6(4), 691-695.
- Alvarenga-Venutolo, S., Coy-Herrera, R., Valerín-Berrocal, K., & Valverde, N. (2013). Determinación del efecto de diferentes nanopartículas sobre la producción de brotes en células de hoja y callo de *Uncaria tomentosa*.
- Arvouet-Grand A, Lejeune B, Bastide P, Pourrat a, Privat AM, Legrt P. Propolis extrac. L. Acute toxicity and determination of acute primary cutaneous irritation index. *Pharm Belg* 1993.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Lergret, P (1994). Standardisation dun extrait de propolis et identification des principaux constituants. *J. Pharm. Belgique*. 49, 462-468.
- Association of Official Analytical Chemists. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. (Volumen 2). USA
- Axelos, M. A., & Van de Voorde, M. (Eds.). (2017). *Nanotechnology in Agriculture and Food Science*. John Wiley & Sons.
- Azeredo, H., Mattoso, L. H. C., Wood, D., Williams, T. G., Avena- Bustillos, R. J., and McHugh, T. H. (2009). Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. *Journal of food science*. 74 (5): 31-35.
- Baba, Y. 2006. Nanotechnology in medicine, *Nihon Rishon*, 64: 189-98

- Betancour, R. Reyes, P., Puente, B., Avila, O., Rodriguez C. cardenas O., Lira, S., Garcia, C., 2013. Synthesis of copper nanoparticles by thermal decomposition and their antimicrobial properties. *Journal of nanomaterials*. 5: 5 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/980545>.
- Carrillo González, R., & González Chávez, M. del C. A. (2009). La nanotecnología en la agricultura y rehabilitación de suelos contaminados. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología*, 2(2).
- Coppo, J. A. (2009). Nanotecnología, medicina veterinaria y producción agropecuaria. *Revista Veterinaria, Corrientes*, 20(1), 61-71.
- Da Costa, M. V. J., and Sharma, P. K. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*. *Photosynthetica*, 54(1), 110-119
- Dahlgren. Z. Yu and R.A. (2000) Evaluation of methods for measuring for polyphenols in conifer foliage. *Journal of chemical ecology*. Vol. 26. Pp. 2119- 2140.
- Díez, M. J., & Nuez, F. (2008). Tomato. In *Vegetables II* (pp. 249-323). Springer New York.
- Doshi, R., Braida, W., Christodoulatos, C., Wazne, M., & O'Connor, G. (2008). Nano-aluminum: transport through sand columns and environmental effects on plants and soil communities. *Environmental Research*, 106(3), 296-303.
- Drexler, E. K. (1994). *Nanotecnología, La*. Gedisa.
- Economía, S. de. (2017). Desarrolla el CENAM el Programa de Metrología para las Nanotecnologías (ProMetNano). *Gob.mx* (URL. <http://www.gob.mx/se/articulos/desarrolla-el-cenam-el-programa-de-metrologia-para-las-nanotecnologias-prometnano?idiom=es>).

- FAO., (2002). Produccion vegetal. *Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. AdhiRoma*
- Fish, W. W., Perkins-Veazie, P., & Collins, J. K. (2002). A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. *Journal of food composition and analysis*, 15(3), 309-317.
- FIRA. (2016). Panorama agroalimentario. 15/10/2017, de FIRA Sitio web: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama_Agroalimentario_Tomate_Rojo_2016.pdf.
- Gómez García, M. D. C. (2015). Sustratos funcionalizados con zeolita más nanopartículas metálicas y su efecto promotor de crecimiento en plantas de chile y tomate.
- Hernández, H. H., Benavides-Mendoza, A., Ortega-Ortiz, H., Hernández-Fuentes, A. D., & Juárez-Maldonado, A. (2017). Cu Nanoparticles in chitosan-PVA hydrogels as promoters of growth, productivity and fruit quality in tomato. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(8), 573-580.
- Hong, J., Rico, C. M., Zhao, L., Adeleye, A. S., Keller, A. A., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2015). Toxic effects of copper-based nanoparticles or compounds to lettuce (*Lactuca sativa*) and alfalfa (*Medicago sativa*). *Environmental Science: Processes & Impacts*, 17(1), 177-185.
- Infoagro. (2006)). El cultivo de tomate [online] disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/tomate.htm>, [accedido] 10/10/2017.
- InfoStat versión 2017. Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

- Jaiswal, M., Chauhan, D and Sankaramakrishnan, N. (2002). Copper chitosan nanocomposite: synthesis, characterization, and application in removal of organophosphorous pesticide from agricultural runoff. *Environmental Sciences and Pollution Research*, 19: 2055-2062
- Jo, Y., W. Cromwell, H.K. Jeong, J. Thorkelson, J.H. Roh, D.B. Shin. 2015. Use of silver nanoparticles for managing *Gibberella fujikuroi* on rice seedling. *Crop Protection* (74): 65-69.
- Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortiz, H., Benavides-Mendoza, A., Cadenas-Pliego, G., and Pérez-Labrada, F. (2015). *Efecto en el rendimiento, contenido de minerales y compuestos antioxidantes en lechuga con aplicación de nanopartículas de Cu absorbidas en hidrogeles de quitosano. XV congreso iberoamericano para el desarrollo y aplicación de los plásticos en la agricultura, 318 pp.* Saltillo, Coahuila, México. 28-30 octubre 2015.
- Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortiz, H., Pérez-Labrada, F., Cadenas-Pliego, G., & 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.
- Klaine, S. J., Alvarez, P. J., Batley, G. E., Fernandes, T. F., Handy, R. D., Lyon, D. Y., & Lead, J. R. (2008). Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental toxicology and chemistry*, 27(9), 1825-1851.
- Padayatt, S. J., R. Daruwala, Y. Wang, P. K. Eck, J. Song, W. S. Koh, and M. Levine. 2001. Vitamin C: from molecular actions to optimum intake. pp. 117-145. In: E. Cadenas and L. Packer (Eds.). *Handbook of antioxidants*. CRC Press. Washington, DC, USA.
- Pérez. E. H. A., Chávez. M.J., carrillo. F. G., Rodríguez. M. M y Ascencio. H. R., (2017). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. Vol.8 (1) p.333-343.

- Pinedo-Guerrero, Z. H., Hernández-Fuentes, A. D., Ortega-Ortiz, H., Benavides-Mendoza, A., Cadenas-Pliego, G. & Juárez-Maldonado, A. (2017). Cu Nanoparticles in Hydrogels of Chitosan-PVA Affects the Characteristics of Post-Harvest and Bioactive Compounds of Jalapeño Pepper. *Molecules*, 22(6), 926.
- Pradhan, S., Patra, P., Mitra, S., Dey, K. K., Basu, S., Chandra, S., & Goswami, A. (2015). Copper nanoparticle (CuNP) nanochain arrays with a reduced toxicity response: a biophysical and biochemical outlook on *Vigna radiata*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(10), 2606-2617.
- Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., and Pradeep, T. (2012). Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of plant nutrition*.35 (6): 905-927
- Sagarpa., (2015) generalidades del cultivo de tomate [online] disponible en: http://snics.sagarpa.gob.mx/rfaa/Paginas/Hortalizas/Jitomate/Generalidades_Cultivo.aspx [accedido] 25/10/2017.
- Scarascia, M., Schettini, E., Vox, G., Malincomico, M., Immirzi, B., Pagliara, S., 2006. Mechanical properties decay and morphological behavior of biodegradable films for agricultural mulching in real scale experiment. *Polymer degradation and Stability*, 91: 2801- 2808.
- Sharma, S., & Uttam, K. N. (2017). Rapid analyses of stress of copper oxide nanoparticles on wheat plants at an early stage by laser induced fluorescence and attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 92, 135–150. <http://doi.org/10.1016/j.vibspec.2017.06.004>
- Srilatha, B. (2011). Nanotechnology in agriculture. *J. Nanomed. Nanotechnology*, 2(7), 5.
- Soto, G y López, A., (2010). *Nanotecnología en la agricultura*, 5(1)
- Steiner, A.A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil*. 15: 134-154

- Trujillo-Reyes, J., Majumdar, S., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., and GardeaTorresdey, J. L. (2014). Exposure studies of core-shell Fe/Fe₃O₄ and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: Are they a potential physiological and nutritional hazard. *Journal of hazardous materials*, 267: 255-263.
- Lamas. C.L., (2010). Nanotecnología en agricultura y alimentación | Nanotecnología, cultura digital e innovación, *fundación telefónica* URL: <https://nanotecnologia.fundaciontelefonica.com/2010/06/11/nanotecnologia-en-agricultura-y-alimentacion/>.
- León Morales, J. M., & Sepúlveda Jiménez, G. (2012). El daño por oxidación causado por cobre y la respuesta antioxidante de las plantas. *Interciencia*, 37(11).
- Lövestam, G., Rauscher, H., Roebben, G., Klüttgen, B. S., Gibson, N., Putaud, J. P., & Stamm, H. (2010). Considerations on a definition of nanomaterial for regulatory purposes. *Joint Research Centre (JRC) Reference Reports*, 80004-1.
- Lugo. M.E., García. G.C y Ruelas. A.R., (2010). NANOTECNOLOGÍA Y NANOENCAPSULACIÓN DE PLAGUICIDAS. *Ra Ximhai*, 6(1).
- Torres, M., salinas, L., Rodríguez. F., olivares. N., Riquelme. J. y Antúnez. A., (2017). Manual de cultivo de tomate bajo invernadero. *INIA*, 12, 11.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., & Kolmakov, A. (2010). Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the total environment*, 408(16), 3053-3061.
- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, London.
- Martin, G.J.A., (2009). Nano ciencia y nanotecnología: entre la ciencia ficción del presente y la tecnología del futuro. España, Fundación Española para la Ciencia y la

Tecnología. URL: <https://openlibra.com/es/book/nanociencia-y-nanotecnologia-entre-la-ciencia-ficcion-del-presente-y-la-tecnologia-del-futuro>.

Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L. A., Puente-Urbina, B. A., & Lira-Saldívar, R. H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova Scientia*, 8(17).

Moghadam, M. M., and Motalleb, G. (2015). Nanoparticles and plant Biotechnology. *Research in Biotechnology*. 6(5):1-15

Munira, S., Hossain, M., Zakaria, M., Ahmed, J. U. & Islam, M. (2015). Evaluación of potato varieties against salinity stress in Bangladesh. *IJPSS*, 6(2): 73-81.

Muñoz, M., (2016). Conacyt. Nano pesticidas y nano fertilizantes, opciones eco amigables para la agricultura. (URL:<http://newsnet.conacytprensa.mx/index.php/documentos/51-tecnologia/biotecnologia/7480-nanopesticidas-y-nanofertilizantes-opciones-ecoamigables-para-la-agricultura>).

Monge, M. (2019). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de Química*, 105(1).

Parque IY, Kim IY, Yoo MK, Choy YJ, Cho MH, et al. (2008) polietilenimina manosilado acoplado nanopartículas de sílice mesoporosas para receptor-mediada por la entrega de genes. *Int J Pharm*.359: 280-287.

Nsor-atindana J, Zhong F, Mothibe KJ. Quantification of Total Polyphenolic Content and Antimicrobial Activity of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Bean Shells. *Pakistan J Nutr*. 2012; 11(7):574–9.

Poole, C. P., & Owens, F. J. (2007). *Introducción a la nanotecnología*.

- Pulit, J., Banach, M., & Kowalski, Z. (2011). Nanosilver-making difficult decisions. *Ecological Chemistry Engineering, 1*, 185-96.
- Rivera Jaramillo, Y. A., Juárez Maldonado, A. A., González Morales, S. C. A., & Martínez Amador, S. Y. C. A. (2017). *Aplicación de Nanopartículas de Cobre y su Efecto en el Contenido de Antioxidantes en Plantas de Tomate (Solanum lycopersicum L.)*. Tesis de licenciatura, universidad autónoma agraria Antonio narro, saltillo Coahuila.
- Ruiz-Torres, N., & I. García López, J. (2016). Efecto de nanopartículas metálicas y derivadas del carbón en la fisiología de semillas.
- Vázquez López, m. s., Juárez Maldonado, a. d., de la rosa Ibarra, m. d., & de la fuente cabrera, m. d. (2016 Tesis de licenciatura, universidad autónoma agraria Antonio narro, saltillo Coahuila.
- Wang, S., Liu, H., Zhang, Y. y Xin, H. (2015). Effect of CuO nanoparticles on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots of rice. *Environmental Toxicological Chemistry, 34*: 554- 561.
- Wing, C. E. G. (2006). Las NANOPARTÍCULAS: pequeñas estructuras con gran potencial. *El Inin Hoy, Contacto Nuclear*, 24-29. Recuperado desde: <http://inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/39%20NANOPARTICULAS.pdf>.
- Yan H, Mochizuki Y, Jo T, Okuzaki H (2011) de pared simple-carbono Nanotube- a Base de efecto de campo Transistores con Funciones Biosensores para Próstata específica-antígeno. *J Bioequiv Availab 3*: 069-071.
- Yu.,S.J. Yu, Y.G. Yin, J.B. Chao, M.H. Shen, J.F. Liu Highly dynamic PVP-coated silver nanoparticles in aquatic environments: chemical and morphology change induced by oxidaiton of Ag0 and reduction of Ag+Environ. *Sci. Technol.*, 48 (2014), pp. 403-411

Záyago-Lau, E., & Foladori, G. (2010). La nanotecnología en México: un desarrollo incierto.

Economía, sociedad y territorio, 10(32), 143–178.