

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Comportamiento Fisiológico y Agronómico de Plantas de Tomate (*Solanum lycopersicum*) Variedad "Río Grande", Tratadas con Suspensiones de Nanopartículas de Oxido de Cobre (CuO).

Por:

**MARCO ANTONIO GALINDO RIVAS**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Comportamiento Fisiológico y Agronómico de Plantas de Tomate (*Solanum lycopersicum*) Variedad "Río Grande", Tratadas con Suspensiones de Nanopartículas de Oxido de Cobre (CuO)

Por:

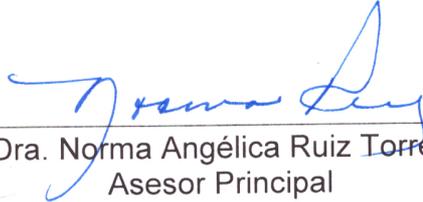
**MARCO ANTONIO GALINDO RIVAS**

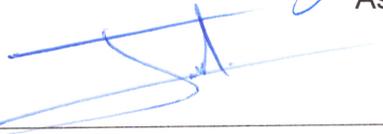
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

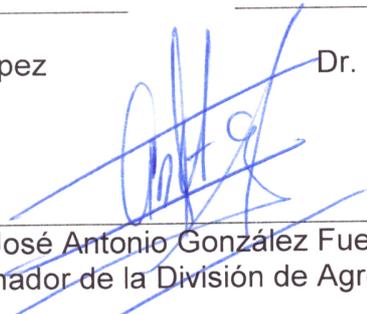
**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
Dra. Norma Angélica Ruiz Torres  
Asesor Principal

  
M.C. Josué Israel García López  
Coasesor

  
Dr. Froylán Rincón Sánchez  
Coasesor

  
Dr. José Antonio González Fuentes  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México



Febrero, 2020

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a **DIOS**. Por haberme dado la vida, las fuerzas, la voluntad, la paciencia y perseverancia, colocándome siempre en los mejores caminos para lograr uno de mis sueños.

**A mi familia.** Que me han dado impulso en mi superación académica, y siempre han estado conmigo a cada momento, gracias por su motivación.

También agradezco a mis amigos en especial a **Beto y Oswaldo**, quienes siempre estuvieron ahí para apoyarme en cada momento y que gracias a ellos mi estancia aquí fue muy agradable.

**A mi alma mater.** Por abrirme sus puertas y hacer que me sintiera como en casa, por todas esas alegrías y buenos momentos que pase en esta institución, por brindarme las herramientas necesarias para mi formación profesional. Por eso y por tantas cosas más **¡Buitre por siempre!**

A la **Dra. Norma Angélica Ruiz Torres**. Por darme la oportunidad de trabajar en esta investigación y brindarme su valioso tiempo, dedicación, paciencia y sus conocimientos para terminar con este trabajo que es la primera etapa final de mis estudios profesionales.

## DEDICATORIA

**A DIOS** por cuidarme en cada paso que doy en mi vida, siendo mi guía en todos los aspectos, colocándome en el lugar indicado para mis mejores opciones.

El presente trabajo se lo dedico con mucho amor y cariño a mi querida madre la **Sra. Maura Rivas Barrón**, que gracias a sus consejos y regaños hicieron de mí la persona que ahora soy. Siendo la persona que se ha hecho responsable de mí desde mi niñez.

A mi hermosa **hija Emily Guadalupe Galindo Ortega**, mi pequeña, que aunque no estemos juntos, siempre te llevo en mi corazón.

A mis **hermanos Eusebio, Rocío y David** por su compañía, siendo un impulso en mi vida para lograr mis estudios profesionales.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN .....	viii
INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 OBJETIVO .....	3
1.2 HIPÓTESIS .....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Nanotecnología .....	4
2.2 ¿Qué son las nanopartículas? .....	5
2.3 Nanopartículas empleadas como nanofertilizantes.....	6
2.4 Nanopartículas aplicadas a semillas .....	7
2.5 Efectos negativos de las nanopartículas .....	9
2.6 El cobre en las plantas .....	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1 Localización de sitio experimental.....	13
3.2 Material genético.....	13
3.3 Trasplante .....	13
3.4 Nutrición mineral .....	13
3.5 Solución de Hoagland .....	14
3.6 Diseño experimental .....	15
3.7 VARIABLES EVALUADAS.....	15
3.7.1 Altura de planta (AP).....	15
3.7.2 Diámetro de tallo (DT).....	15
3.7.3 Tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> (Fotosíntesis) .....	16
3.7.4 Peso de fruto (PF) y diámetro de fruto (DF).....	16
3.7.5 Peso seco de raíz y de vástago .....	16
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	17
V. CONCLUSIONES.....	31
VI. LITERATURA CITADA.....	32
VII. Anexos .....	38

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> por tratamiento y por fecha. Se observó que a una concentración mayor de NPsCuO (100 ppm), se incrementó la asimilación de CO<sub>2</sub>, indicando una mejor eficiencia del mesófilo de la hoja..... 38
- Figura 2.** Conductancia estomática por tratamiento y por fecha. Menor conductancia estomática en el mes de agosto, debido a temperaturas más altas. A 100 ppm, se mantuvo constante en los meses de agosto y septiembre. .... 38
- Figura 3.** CO<sub>2</sub> intercelular por tratamiento y por fecha. A 100 ppm se mantuvo constante en los meses de septiembre y octubre..... 39
- Figura 4.** Tasa de transpiración por dosis y fecha de determinación. Menor tasa de transpiración relacionada con menor apertura estomática en el mes de agosto, debido a temperaturas más altas. .... 39
- Figura 5.** Peso de fruto por tratamiento y por fecha. Reducción importante en el mes de octubre, posiblemente debido a deficiencia de Cu y efecto de ambiente..... 40
- Figura 6.** Diámetro de fruto por tratamiento y por fecha. En el mes de octubre se redujo el tamaño de los frutos, posiblemente por efecto de ambiente y deficiencia de Cu.... 40

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Composición de soluciones madre para preparar Hoagland. ....	14
<b>Cuadro 2.</b> Tratamientos aplicados en suspensión a plantas cultivadas en invernadero. ....	14
<b>Cuadro 3.</b> Cuadros medios del análisis de varianza para variables agronómicas evaluadas en plantas de tomate, en ensayo de invernadero con la aplicación de NPsCuO. ....	17
<b>Cuadro 4.</b> Cuadros medios del análisis de varianza para variables relacionadas con la tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> , evaluadas en plantas de tomate en ensayo de invernadero con la aplicación de (NPsCuO). ....	19
<b>Cuadro 5.</b> Cuadros medios del análisis de varianza para las variables peso seco de raíz ..... y de vástago. ....	20 20
<b>Cuadro 6.</b> Comparación de medias por Fecha de variables agronómicas evaluadas en invernadero en plantas de tomate tratadas con NPsCuO. ....	21
<b>Cuadro 7.</b> Comparación de medias por Fecha para las variables peso y diámetro de fruto en plantas de tomate tratadas con (NPsCuO). ....	23
<b>Cuadro 8.</b> Comparación de medias por tratamiento para las variables peso y diámetro de fruto, en plantas de tomate tratadas con NPsCuO. ....	24
<b>Cuadro 9.</b> Comparación de medias por tratamiento para las variables altura y diámetro de tallo, en plantas de tomate tratadas con (NPsCuO). ....	25
<b>Cuadro 10.</b> Comparación de medias por Fecha para variables relacionadas con la tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> , evaluadas en plantas de tomate en ensayo de invernadero tratadas con (NPsCuO). ....	26
<b>Cuadro 11.</b> Comparación de medias por tratamiento para variables relacionadas con la tasa de asimilación de CO <sub>2</sub> , evaluadas en plantas de tomate en ensayo de invernadero tratadas con (NPsCuO). ....	28
<b>Cuadro 12.</b> Comparación de medias por tratamiento de las variables peso seco de vástago y raíz en plantas de tomate tratadas con (NPsCuO) .....	29

## RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el invernadero No. 2, del Campus sede de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas geográficas son: 25°27'36.16" de latitud Norte y 100°58'06.08" latitud Oeste, a la altitud de 1742 msnm. Para evaluar la respuesta a las nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO), de variables agronómicas y de la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, en plantas de tomate variedad "Río Grande".

Semillas previamente imbibidas en NPsCuO (0, 25, 50 y 100 ppm), se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades. Posteriormente se trasplantaron a maceta en donde se aplicó al sustrato NPsCuO (0, 25, 50 y 100 ppm), y subsiguientemente se determinó altura de planta, diámetro de tallo, peso de fruto, diámetro de fruto y peso seco de raíz y de vástago. También se determinó la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> intercelular, tasa de transpiración y conductancia estomática, con un determinador portátil marca LI-COR 6400.

El experimento en invernadero se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 5 x 4 (5 fechas de evaluación x 4 tratamientos con NPsCuO) y para el estudio fisiológico de fotosíntesis, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3 x 4 (3 fechas de determinación x 4 tratamientos con NPsCuO). Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una Pruebas de Rango Múltiple de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

En invernadero, la aplicación de NPsCuO al sustrato en forma de suspensión a concentraciones bajas afectó el desarrollo de frutos, posiblemente por deficiencias, mientras que a 100 ppm, se observó un comportamiento estadísticamente igual al testigo, al cual se aplicó solución nutritiva Hoagland con Cu. Por otra parte, para la variable AP se presentó un efecto desfavorable con la aplicación de NPsCuO, ya que al incrementar la concentración, se redujo la altura de las plantas. En la variable DT, las tres concentraciones en estudio, resultaron ser estadísticamente igual al testigo. En las variables fisiológicas relacionadas con la fotosíntesis, se observó que la conductancia estomática que mide el intercambio gaseoso y la tasa de transpiración,

al aplicar NPsCuO a concentraciones bajas (25 ppm), se redujo los valores en ambas variables, lo cual es interesante, ya que se realiza un uso más eficiente del agua, reduciendo la tasa de transpiración, al mantener menos abiertos las estomas. Sin embargo, a concentraciones de 50 y 100 ppm, se obtuvieron resultados estadísticamente igual al testigo. Respecto a la variable CO<sub>2</sub> intercelular "C<sub>i</sub>", el uso de NPs en diferentes concentraciones, no alteró el comportamiento de esta variable, observándose una respuesta estadísticamente igual en todos los tratamientos, indicando que se mantiene la eficiencia del mesófilo. Para la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> "A", a concentraciones bajas se redujo la fijación de CO<sub>2</sub>, posiblemente por deficiencia de Cu, por su participación en el proceso fotosintético. Además, se observó que al incrementar a 50 y 100 ppm, se obtuvo mayor A. En cuanto a las variables peso seco de raíz y vástago, no influyó significativamente la aplicación de NPsCuO al sustrato.

Palabras clave: Nanotecnología, nanopartículas, fotosíntesis, fisiología, transpiración.

## I. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Royal Society (2004), la nanotecnología (NT) es el diseño, caracterización y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas complejos mediante el control de la forma, el tamaño y las propiedades de la materia a escala nanométrica. La NT se orienta a la caracterización, elaboración y aplicación de materiales de dimensiones muy pequeñas, en el rango de 1 a 100 nanómetros (nm), o sea de 1 a 100 billonésimas de metro (Yadollahi *et al.*, 2009). Se espera que la NT desempeñe un papel vital en varias disciplinas, ya que se está convirtiendo en una tendencia del campo científico más innovador. En la agricultura moderna sustentable la NT promete aportar soluciones usando nanopartículas (NPs); las cuales poseen tres mecanismos principales de acción: 1) generación de especies reactivas de oxígeno, 2) liberación de iones, y 3) acumulación o penetración de la membrana celular (Alvarado *et al.*, 2014 y Resham *et al.*, 2015)

En México, el proceso de investigación en el campo de la NT ha iniciado al igual que en otras economías de Latinoamérica, para lo cual se está experimentando, innovando, capacitando y formando recursos humanos. Es una realidad que la nanociencia se ha convertido en un nuevo paradigma en el conocimiento humano. La NT tiene un gran potencial, ya que puede mejorar la calidad de vida a través de sus aplicaciones en campos como la agricultura y la tecnología (Walker y Bucher, 2009).

En un intervalo de tiempo relativamente corto, la NT ha tenido un impacto significativo en numerosos sectores incluyendo la agroindustria. La NT propicia oportunidades de investigación interdisciplinaria en áreas como la medicina, la industria farmacéutica, la electrónica y la agricultura sustentable (Prasad *et al.*, 2014). La NT permite detectar la presencia de plagas y enfermedades, contaminación de alimentos y aplicar la cantidad correcta de nutrientes y de pesticidas que incrementen la productividad, al mismo tiempo que garanticen la seguridad del medio ambiente y una mayor eficiencia en el uso de insumos agrícolas (Nuruzzaman *et al.*, 2016). Es así como la NT aplicada a la agricultura, tiene por objetivo formular productos con ingredientes activos de tamaño

nanométrico, para hacerlos más eficientes y biodisponibles, además de minimizar las pérdidas al aplicar el producto (Ruiz Torres *et al.*, 2016).

Las aplicaciones de la NT en la agricultura son muy diversas, en este contexto, la bioencapsulación de agroquímicos y microorganismos benéficos adquiere relevancia porque es una manera de controlar plagas y enfermedades con bajo impacto ambiental, y permite reducir la cantidad de agroquímicos que dañen los ecosistemas (Grillo *et al.*, 2016).

Por esta razón, la NT es considerada parte de la nueva revolución tecnológica; ya que brinda grandes posibilidades de desarrollo a medida que se adopta por la sociedad (Contreras, 2016). Otras áreas de aplicación son el desarrollo de películas para celdas solares, almacenamiento de energía, nanogeneradores, la catálisis de combustible y de tratamiento de agua (Khan, 2014). Sin embargo, a pesar de que en algunos sectores de la economía la NT ha presentado avances considerables, sus aplicaciones en la agricultura apenas comienzan a investigarse. En este sentido, esta investigación pretende reportar los efectos de diferentes concentraciones de NPsCuO, en la fenología, tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> y la productividad de plantas de tomate variedad "Río Grande" en condiciones de invernadero.

### **1.1 OBJETIVO**

Evaluar el efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de NPsCuO, en la fenología, la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, y la productividad de plantas de tomate variedad "Río Grande".

### **1.2 HIPÓTESIS**

La aplicación de NPsCuO en concentraciones altas, afecta el crecimiento, fisiología y productividad de las plantas de tomate, variedad "Río Grande".

La aplicación de NPsCuO en concentraciones altas, no afecta el crecimiento, fisiología y productividad de las plantas de tomate, variedad "Río Grande".

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Nanotecnología

La nanotecnología (NT) es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación, manejo, operación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas a nano escala. Su potencial, radica en que puede mejorar la calidad de vida a través de sus aplicaciones en diversos campos, como la gricultura y la tecnología de los alimentos (Buzea *et al.*, 2007; Walker y Bucher, 2009).

La NT se orienta a la caracterización, elaboración y aplicación de materiales de dimensiones muy pequeñas, en el rango de 1 a 100 nanómetros (nm), o sea de 1 a 100 billonésimas de metro (Yadollahi *et al.*, 2009).

La NT incluye la mejora de la productividad agrícola utilizando NPs como inductoras del crecimiento de las plantas, producción de nanoencapsulados para la liberación prolongada de fertilizantes, así como para la formulación de nanoplaguicidas y nanoherbicidas (Lira Saldivar *et al.*, 2016).

La NT ha generado gran interés en el desarrollo de productos de uso agrícola, ya que puede aminorar el uso de agroquímicos sintéticos, con la posibilidad de reducir el impacto ambiental que se ha venido dando en las últimas décadas. A través de la NT se puede formular productos con ingredientes activos de tamaño nanométrico, para que sean más eficientes y de fácil disponibilidad, además reducen las pérdidas al aplicar el producto (Ruiz Torres *et al.*, 2016).

La NT puede revolucionar los sistemas agroalimentarios, a través de la utilización eficiente del agua, la protección contra plagas, proporcionando herramientas para la biología molecular y celular, creando nuevos materiales para la detección y protección del medio ambiente. Esta observación se relaciona con la generación de estrategias para el uso de nanomateriales en la agricultura sustentable, como un enfoque moderno (Lira Saldivar *et al.*, 2014). En la agricultura moderna la NT promete aportar soluciones usando nanopartículas (NPs) generando especies reactivas de oxígeno, liberando iones, y con su acumulación o penetración de la membrana celular (Alvarado *et al.*, 2014 y Resham *et al.*, 2015). La NT puede incrementar también la eficacia de los

pesticidas e insecticidas comerciales, reduciendo la cantidad de aplicación al suelo o follaje (Xue *et al.*, 2014).

## **2.2 ¿Qué son las nanopartículas?**

Las nanopartículas (NPs) son agregados atómicos o moleculares con al menos una dimensión entre 1 y 100 nm (Ball, 2002; Roco, 2003), que se pueden modificar en sus propiedades físico-químicas, en comparación con el material a granel (Nel *et al.*, 2006). Tienen aplicaciones en varios campos, entre ellos el biomédico, biológico, óptico y electrónico (Ball, 2002; Karunaratne, 2007).

Las NPs pueden tener una mayor reactividad química y ser más bioactivas que las partículas de mayor tamaño, además de mejor acceso a cualquier cuerpo y con la posibilidad de entrar en células, tejidos, y órganos (Lugo-Medina *et al.*, 2010).

Las NPs están relacionadas con la reducción del impacto ecológico, al requerirse menor cantidad de aplicaciones en cultivos (Lira-Saldívar *et al.*, 2016). Sin embargo, pueden tener efectos positivos o negativos en los cultivos, la eficacia de aplicación se determina por el genotipo, composición química, tamaño, revestimiento superficial, reactividad y lo más importante, la dosis en la cual son eficaces, la cual depende del tipo, fuente y tamaño de las NPs, esta tiene variación con respecto a las especie, etapa de crecimiento, condiciones de desarrollo, método de aplicación, y estos a su vez afecta los procesos fisiológicos, morfológicos, bioquímicos y moleculares en las plantas (Muhammad *et al.*, 2016; Khodakovskaya *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015; Hatami *et al.*, 2014; Mingyu *et al.*, 2007).

Durante las últimas décadas, parte de la investigación en ciencia y tecnología se ha centrado en la Nanobiotenología (Savage *et al.*, 2007). Esta ciencia facilita productos con nuevas propiedades fisicoquímicas, diferentes a las de las moléculas originales o con sólidos de la misma composición (Medina *et al.*, 2007).

Las NPs interactúan con las plantas generando cambios en la morfología y en la fisiología, dependiendo de sus propiedades. Una de las principales aplicaciones de las NPs, es el uso de nano-encapsulados para liberación de pesticidas y otras sustancias

químicas (Kah *et al.*, 2012), con la consecuente ventaja de controlar mejor su liberación en el medio ambiente y su movimiento. Es decir, los recubrimientos pueden permitir que las NPs no se adhieran a las plantas debido a su afinidad y así no se produzca la acumulación de esta sustancia tóxica en la planta. También la liberación del compuesto se produce más lentamente, por tanto, no hay problemas de sobredosis temporal, minimizando la contaminación.

### **2.3 Nanopartículas empleadas como nanofertilizantes**

Las prácticas agrícolas están contribuyendo a la degradación de los procesos ecológicos que sustentan la vida en la tierra. Los fertilizantes son importantes para incrementar el rendimiento de los cultivos, sin embargo su baja eficiencia de aprovechamiento provoca contaminación ambiental, disminución de la calidad del agua y daño a las comunidades microbianas del suelo. La NT tiene potencial para mejorar la producción de alimentos con el uso de nanofertilizantes foliares y nanopesticidas, que proporcionan cantidades óptimas y reducen las pérdidas (Li *et al.*, 2016).

Por ejemplo, las zeolitas, nanoarcillas, nanozeolitas y nanominerales se utilizan para mejorar la retención de agua, como acarreadores de nutrientes, y para la recuperación de suelos contaminados por fertilizantes y pesticidas. Estos nanomateriales promueven la germinación de semillas, crecimiento de las plantas, y la fijación del P y N (Rameshaiah y Pallavi, 2015).

Trabajos realizados sobre la aplicación de las NPs en diferentes cultivos, han evidenciado que mejoran el crecimiento de las plantas, el contenido nutricional y la actividad enzimática (Engates y Shipley, 2011).

Algunas NPs de ZnO y CuO muestran un efecto positivo sobre la reactividad de fitohormonas, especialmente del ácido indolacético, el cual promueve la elongación y división celular, incrementando la velocidad de crecimiento en las plantas; además de activar la biosíntesis de ácido salicílico, favoreciendo su acción fitoestimulante (Wang *et al.*, 2012). Otras NPs como las de óxido de titanio (NPsTiO<sub>2</sub>), aplicadas al follaje, causan un incremento en la actividad de varias enzimas y promueven la absorción del

nitrato, el cual acelera la transformación del nitrógeno inorgánico a orgánico, haciéndolo más asimilable, reflejándose esto en mayor crecimiento vegetal (Rezaei *et al.*, 2015).

El uso de nanocápsulas ayudará a evitar problemas en los cultivos, mediante la utilización de herbicidas sistémicos contra malezas parásitas (Yin *et al.*, 2012). En este sentido, Scott y Chen (2013) señalan que los nanodispositivos tendrán la capacidad de detectar una infección, la deficiencia de nutrientes en las plantas, o cualquier otro problema de fitosanidad, mucho antes de que los síntomas sean evidentes en la escala macro.

Los estudios muestran que el uso de nano fertilizantes causa un aumento en la eficiencia de uso de nutrientes, reduce la toxicidad del suelo, así como los potenciales efectos negativos asociados con la dosificación excesiva y reduce la frecuencia de las aplicaciones. Por lo tanto, la NT tiene un alto potencial para lograr una agricultura sustentable, especialmente en los países en desarrollo (Lira saldivar *et al.*, 2016)

Algunas NPs como las de CuO muestran un efecto positivo sobre la reactividad de fitohormonas, especialmente del ácido indolacético (AIA), así como del ácido salicílico, esto hace que se facilite o incremente la acción fitoestimulante de las NPs (Wang *et al.*, 2015).

#### **2.4 Nanopartículas aplicadas a semillas**

Una semilla de alta calidad es importante para la obtención de un cultivo con buena densidad de población y un rápido desarrollo de plantas, aún bajo condiciones de estrés, aunque hay otros factores como la lluvia, las prácticas agronómicas, la fertilidad del suelo y el control de plagas que también son decisivos (FAO, 2011).

Las NPs pueden ser usadas en el manejo de las semillas e indican una variedad de aplicaciones, entre las que incluyen la imbibición con nano-encapsulaciones de cepas específicas de bacterias a lo cual denominan “semillas inteligentes”, asegurando el establecimiento en campo, mejorando la productividad de los cultivos. La NT ofrece como herramienta la aplicación de NPs, que mejoran la germinación de las semillas y

los parámetros fisiológicos relacionados, para optimar la capacidad de absorción, degradación de reservas y división celular.

Algunos autores (Hashemi y Mosavi, 2013; Ullah y Arshad, 2014) mencionaron que las semillas tratadas con materiales a nano escala, pueden generar un cambio en la dinámica de la germinación, observándose un incremento en el porcentaje de germinación y el índice de velocidad de emergencia. El periodo de germinación se acelera debido a la mayor disponibilidad de agua, y el porcentaje de germinación final se incrementa, lo cual indica condiciones adecuadas para el crecimiento de las semillas. La clave para el aumento de la tasa final de germinación de las semillas es la penetración de nanomateriales en la semilla (Khodakovskaya *et al.*, 2009).

El efecto de las NPs comienza a manifestarse desde la germinación de las semillas, reflejándose en una mayor emergencia y uniformidad, que se observa en la germinación final, debido principalmente a la penetración de nanomateriales en la semilla, que permiten aumentar la imbibición de agua y micronutrientes, acelerando la degradación de reservas, y beneficiando a las primeras etapas del proceso germinativo.

Las NPs debido a sus características físico-químicas, son algunos de los posibles candidatos para modular el estado redox y el cambio de la germinación de las semillas, el crecimiento, el rendimiento y la calidad de las plantas (Mukherjee y Mahapatra, 2009). La aplicación de NPs estimula la germinación de la mayoría de las especies, sin embargo, esta respuesta depende de la concentración y el genotipo (Hatami *et al.*, 2014).

El empleo de NPs para estimular la germinación y vigor de semillas, mejora el rendimiento de los cultivos aproximadamente en un 16 % con una dosis adecuada, sin embargo, el nivel de respuesta depende del tipo de nanomaterial, su aplicación potencial y el genotipo. Desde esta perspectiva, es recomendable no solo evaluar la respuesta de diversos genotipos a la aplicación de NPs durante la germinación, sino ir más allá para conocer la capacidad de estos a etapas subsecuentes (Buu *et al.*, 2014).

No obstante, el efecto de las NPs en semillas y en plantas puede ser positivo o negativo. Una preocupación para la aplicación de nanomateriales en la germinación de las semillas es su fitotoxicidad (Monica y Cremonini, 2009).

### **2.5 Efectos negativos de las nanopartículas**

Las aplicaciones de nanomateriales pueden provocar toxicidad y obstruir en el metabolismo a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Tang *et al.*, 2016). Los mecanismos de nanotoxicidad siguen siendo desconocidos, sin embargo, están estrechamente relacionados con el producto químico, composición, estructura química, tamaño de partícula, y área de superficie (Aslani, 2014). La toxicidad de las NPs puede atribuirse a las siguientes dos acciones: 1) una toxicidad química en base a la liberación de iones (tóxicos), 2) el estrés o estímulos causados por la superficie, 3) el tamaño y/o forma de las partículas. Se ha confirmado que la solubilidad de las NPs de óxido afecta significativamente la respuesta del cultivo (Brunner *et al.*, 2006).

Estudios realizados por García *et al.* (2011), revelan que las NPs de cerio son extremadamente tóxicas en el conjunto de ensayos realizados, habiendo determinado que en pruebas de germinación de algunas semillas se mostró un efecto perjudicial (fitotoxicidad) en la germinación. Reportes previos muestran que la fitotoxicidad causada por algunas NPs genera un comportamiento impredecible e irregular sobre el estrés oxidativo, que a su vez depende del tipo, concentración, propiedades y medios de exposición de las NPs (Lei *et al.*, 2008; Foltête *et al.*, 2011; Song *et al.*, 2012).

Los nanomateriales son considerados como un factor de estrés en las plantas, ya que existe la posibilidad de que puedan remodelar y modificar la estructura y constitución de las membranas y pared celular en plantas (Liu *et al.*, 2013).

Diversas investigaciones han demostrado que tanto las NPs de carbón, como las metálicas, son capaces de producir estrés en las plantas, generando un exceso de ROS, que pueden afectar las proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN. Las NPs alteran la eficiencia fotosintética, la fluorescencia fotoquímica y el rendimiento cuántico en las plantas, debido a las interacciones de estas con los fotosistemas I y II, ya que estudios

han demostrado que las clorofilas transfieren la energía a las NPs (Olejnik *et al.*, 2013; Rico *et al.*, 2015).

Woo-Mi *et al.* (2008) estudiaron los efectos de las NPs cobre (Cu) para dos especies frijol (*Phaseolus vulgaris*) y trigo (*Triticum sativum*), las pruebas se llevaron a cabo en medios de agar para evitar la precipitación de las NPs, utilizando concentraciones que van de 450 a 722 mg/L. Los resultados indicaron que *Phaseolus vulgaris* fue más sensible al incremento de las NPs Cu, teniendo efectos significativos desde la germinación, crecimiento de planta y rasgos de toxicidad. Al aumentar la concentración, se observó una gran aglomeración de partículas en las células por medio de espectroscopia.

De acuerdo con Wang *et al.* (2016), las plantas sometidas a altas concentraciones de NPs sufren pérdida en la capacidad de la germinación, reducción en la tasa relativa de crecimiento, menor viabilidad del polen, modifica la expresión de genes y altera la generación de especies reactivas de oxígeno.

Andersen *et al.* (2016) mencionaron que la aplicación de NPs tiene diferentes efectos importantes sobre la planta, la germinación y el crecimiento temprano de la raíz pueden considerarse parámetros de evaluación para los efectos potenciales a la alta exposición de NPs. Raskar y Laware (2014) explican que las semillas sometidas a bajas concentraciones de NPs pueden mejorar la germinación, sin embargo, a concentraciones más altas el porcentaje de germinación final puede disminuir considerablemente.

En contraparte, otros autores mencionan que el efecto promotor o inhibidor del crecimiento de las NPs en las plantas está no únicamente relacionado con su concentración, tamaño y las propiedades inherentes del elemento involucrado, sino también con la función fisiológica y bioquímica que desempeña en la planta, esto es, si actúa como micronutriente como es el caso del cobre, zinc y hierro (Wang *et al.*, 2015).

Rizwan *et al.* (2016) indicaron que numerosos estudios han mostrado que las NPs metálicas, afectan el crecimiento, rendimiento y la calidad de importantes cultivos agrícolas.

El exceso de NPs metálicas causa una reducción significativa en el contenido de la clorofila total de plantas (Rao *et al.*, 2014)

Las altas aplicaciones de NPs provocan fitotoxicidad en las plantas e inducen estrés oxidativo, daño en el ADN y muerte celular, debido a alteraciones estructurales de la célula (Ghosh *et al.*, 2016).

Lo reportado por Rico *et al.* (2015), reveló que las NPs alteran algunas características agronómicas como el crecimiento de plantas, producción de biomasa y contenido de clorofila, entre otras variables, lo cual influye sobre el rendimiento.

La mayoría de las NPs tienen efectos positivos y negativos en los cultivos; los cuales dependen del tipo, fuente y tamaño de NPs, y estos a su vez afectan los procesos fisiológicos, morfológicos, bioquímicos y moleculares en las plantas (Muhammad *et al.*, 2016).

## **2.6 El cobre en las plantas**

La concentración de cobre en las plantas varía entre 5 y 20 mg/kg, y hasta un 70% del contenido de cobre se concentra en la clorofila. Al haber deficiencia de cobre en plantas, se presenta envejecimiento prematuro de la clorofila, afectando la eficiencia fotosintética, llevando a una disminución del rendimiento. El Cu también se encuentra en la enzima citocromo-oxidasa, y al haber deficiencia se reduce el crecimiento de la planta. Las plántulas jóvenes contienen la mayor concentración de cobre, la cual disminuye continuamente a medida que estas avanzan hacia la madurez. El cobre se comporta como un elemento móvil en la planta, cuando el nivel de suficiencia es adecuado. Sin embargo, cuando existe insuficiencia, el cobre se queda inmóvil. En plantas bien proveídas de cobre, los extremos de los brotes y las hojas nuevas presentan mayor concentración (Sierra, 2016).

En un estudio realizado en plantas de cilantro, se aplicaron diversos productos a base de cobre, entre ellos una nanopartícula de Cu y otra de óxido de cobre, demostrando que todos los tratamientos causan la acumulación de nutrientes en brotes, excepto Fe y Ni. Los resultados demuestran que a pesar de que se utilizaron bajas concentraciones (20 mg kg<sup>-1</sup>) de las NPs a base de cobre, se afectaron las

cualidades nutricionales del cilantro, las cuáles pueden tener un impacto en la salud humana (Zuversa-Mena *et al.*, 2015).

Un determinó el impacto de las NPs en la calidad de la fruta y suplementos alimenticios, demostrando que algunos azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos y ácidos grasos en frutos de pepino, incrementaron o decrecieron por la aplicación de diferentes concentraciones de NPsCu en suelo, además de cambiar la concentración de varios metabolitos como metilnicotinamida (MNA), trigonelina, imidazol, y quinolinolato (Zhao *et al.*, 2016).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Localización de sitio experimental.**

El presente trabajo se realizó en el invernadero # 2, del Campus sede de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas geográficas son: 25°27'36.16" de latitud Norte y 100°58'06.08" latitud Oeste, a la altitud de 1742 msnm.

#### **3.2 Material genético**

La semilla de tomate (*Solanum lycopersicum*) utilizada fue la variedad Río grande. Considerada una variedad de tomate rastrero, con crecimiento determinado destinado principalmente para conserva. Frutos alargados, cilíndricos con mucha pulpa y buen sabor.

#### **3.3 Trasplante**

Las plantas fueron trasplantadas en macetas de 10 L, se usó sustrato compuesto por perlita y vermiculita en proporción 1.5, respectivamente. Las plantas fueron aclimatadas antes del trasplante, para que no resintieran el cambio de un ambiente a otro. Para cada tratamiento se establecieron 10 macetas, con un total de 40 plantas trasplantadas. Veinte días después del trasplante se aplicó Fertidrip (12-60-00) una vez por semana, en una proporción de 20 g/L de agua. La función del Fertidrip en la planta es lograr el amarre de frutos.

#### **3.4 Nutrición mineral**

Una vez establecidas las plantas en el invernadero, se les proporcionó solución nutritiva "Hoagland", la cual se suministró en el riego en una cantidad de 100 mL/planta diariamente, excepto los días en que se aplicaba la suspensión con nanopartículas (lunes y viernes). La solución Hoagland usada en los tratamientos no incluyó cobre (Cu), el cual fue el elemento a evaluar en este trabajo.

### 3.5 Solución de Hoagland

La solución de Hoagland modificada contiene todos los elementos necesarios para un crecimiento vegetal rápido (Cuadro 1). Las concentraciones de estos elementos son máximas, sin provocar síntomas de toxicidad o estrés salino, y por lo tanto pueden ser varios órdenes de magnitud superior a las que las raíces vegetales encuentran en el suelo. Otra propiedad importante de esta formulación es que el nitrógeno se aporta como mezcla de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ).

**Cuadro 1.** Composición de soluciones madre para preparar Hoagland.

Símbolo	Compuesto	Concentración
A	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1 M (236 g/L)
B	$\text{KNO}_3$	1 M (101 g /L)
C	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1 M (246.5 g/L)
D	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1 M (136 g/L)
E	Quelato de Fe ( $\text{FeSO}_4 + \text{Na}_2\text{EDTA}$ )	5 g/L de Fe
F	Micronutrientes	(1.81 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + 2.86 g $\text{H}_3\text{BO}_3$ + 0.22g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + 0.09 g $\text{H}_2\text{MoO}_4$ en 250 mL de agua destilada)

M= Molaridad (gramos de sal por litro de solución); ppm= partes por millón (número de partes de la sal en un millón de partes de solución).

Las suspensiones con NPs se prepararon a cuatro concentraciones, que dio un total de cuatro tratamientos (Cuadro 2). Las aplicaciones de las NPs CuO se hicieron los días lunes y viernes, en el riego directamente a la raíz (drench), usando un vaso de precipitado. A cada planta se le proporcionaron 100 ml.

**Cuadro 2.** Tratamientos aplicados en suspensión a plantas cultivadas en invernadero.

Tratamiento	NPsCuO (ppm)
T1	0
T2	50
T3	100
T4	200

ppm= partes por millón;

### 3.6 Diseño experimental

El experimento en invernadero se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 5 x 4 (5 fechas de evaluación x 4 tratamientos (0, 25, 50, 100 ppm) con NPsCuO) y para el estudio fisiológico de fotosíntesis, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3 x 4 (3 fechas de determinación x 4 tratamientos con NPsCuO). Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una Pruebas de Rango Múltiple de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), para lo cual se utilizó el paquete estadístico SAS Institute (2004).

#### Modelo estadístico

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}.$$

#### En donde:

$\mu_{ijk}$  = Media general.

$\alpha_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo nivel del factor A (Fecha de evaluación).

$\beta_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo nivel del factor B (Concentración de NPsCuO).

$\alpha\beta_{ij}$  = Efecto de la interacción entre el factor  $\alpha_i$  y el factor  $\beta_j$ .

$e_{ijk}$  = Componente del error aleatorio

### 3.7 VARIABLES EVALUADAS

#### 3.7.1 Altura de planta (AP)

La AP se midió desde el cuello de la raíz hasta la última ramificación del tallo, y se expresó en centímetros (cm).

#### 3.7.2 Diámetro de tallo (DT)

Para la medición del DT, se utilizó un Vernier y se midió en los primeros 10 cm del tallo a partir de la base, expresándose en milímetros (mm).

### **3.7.3 Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (Fotosíntesis)**

En la etapa vegetativa y reproductiva, se tomaron lecturas con un determinador portátil de asimilación de CO<sub>2</sub> marca LI-COR 6400 previamente calibrado, el cual permite mediciones precisas de fotosíntesis e intercambio de CO<sub>2</sub>, la lectura fue tomada una vez que el valor permaneció constante en la pantalla en un lapso de 5 segundos. Seleccionando ocho plantas por cada tratamiento, de las cuales se eligió una hoja por cada repetición que tuviera una superficie foliar de 6 cm<sup>2</sup>. Con una radiación fotosintéticamente activa (PAR) de 199.833  $\mu\text{mol luz m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y una temperatura de hoja 28.195°C.

#### **Variables determinadas**

- Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (**A**), expresado en  $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .
- CO<sub>2</sub> intercelular (**C<sub>i</sub>**) expresada en  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol aire}^{-1}$ .
- Transpiración (**E**) expresada en  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .
- Conductancia estomática al H<sub>2</sub>O (**g<sub>s</sub>**), expresada en  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

### **3.7.4 Peso de fruto (PF) y diámetro de fruto (DF)**

Estas variables se determinaron una vez cosechado el fruto. El primer corte se realizó el día 15 de octubre de 2017 y el segundo el día 01 de noviembre. Para determinar la variable PF se pesó el tomate en una balanza analítica (AND modelo HR-200) y para la variable DF se midió con un vernier.

### **3.7.5 Peso seco de raíz y de vástago**

Al final del estudio se evaluó el peso seco de raíz y vástago, para ello se colocaron en bolsas de papel estraza y se secaron en una estufa a 72°C durante 24 h, posteriormente se pesaron en una balanza analítica (AND modelo HR-200) y el resultado se expresó en gramos por planta ( $\text{g planta}^{-1}$ ).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Cuadro 3), para variables agronómicas evaluadas en el ensayo de invernadero, en la fuente de variación Fecha, indican que en las variables altura de planta, diámetro de tallo, peso y diámetro de fruto, se encontraron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ).

Mientras tanto, para la fuente de variación Tratamiento, las variables peso y diámetro de fruto obtuvieron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ), por otra parte, la variable altura de planta manifestó diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ); respecto a diámetro de tallo no se observaron diferencias estadísticas.

La interacción Fecha\*Tratamiento, no mostró diferencias significativas en las variables AP y DT, en cambio para las variables PF y DF hubo diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ).

**Cuadro 3.** Cuadrados medios del análisis de varianza para variables agronómicas evaluadas en plantas de tomate, en ensayo de invernadero con la aplicación de NPsCuO.

FV	GL	AP (cm)	DT (mm)	GL	PF (g)	DF (mm)
Fecha	4	1695.007**	12.785**	2	30433.930**	16582.559**
Tratamiento	3	932.950**	0.735 NS	3	44.304*	38.458*
Fecha*Trat	12	36.006NS	0.333 NS	6	212.529**	217.474**
Error		121.936	0.591		47.466	21.823
CV (%)		17.208	9.736		49.403	18.306

\*= Diferencias Significativas ( $P \leq 0.05$ ); \*\* Diferencias Altamente Significativas ( $P \leq 0.01$ ); Trat= tratamiento (ppm); FV= Fuentes de Variación; GL= Grados de Libertad; AP= Altura de Planta; DT= Diámetro de Tallo; DF= Diámetro de fruto; ppm= partes por millón; Error= Error Experimental; CV= Coeficiente de Variación; NS= Diferencias no Significativas.

En el análisis de varianza (Cuadro 4), para variables relacionadas con la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, en la fuente de variación Fecha, para las variables A, g<sub>s</sub>, C<sub>i</sub>, y E, mostraron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ). En la fuente de variación tratamiento para las variables g<sub>s</sub>, C<sub>i</sub>, y E, el análisis de varianza indica diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). La variable A mostró diferencias altamente significativas

( $P \leq 0.01$ ) entre tratamientos, lo anterior muestra una respuesta diferencial a las NPsCuO aplicadas durante el desarrollo del cultivo.

La fuente de variación Fecha\*Tratamiento, en todas las variables (A,  $g_s$ ,  $C_i$  y E) se expresaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

La fotosíntesis es un proceso metabólico, por el cual las plantas sintetizan compuestos orgánicos a partir de moléculas inorgánicas utilizando energía metabólica. Las diferencias significativas entre tratamientos, fechas de determinación de variables y la interacción entre estos, indica que el metabolismo de la planta responde de manera desigual, dependiendo de la concentración de NPsCuO aplicada al sustrato.

**Cuadro 4.** Cuadrados medios del análisis de varianza para variables relacionadas con la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, evaluadas en plantas de tomate en ensayo de invernadero con la aplicación de (NPsCuO).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>A</b> ( $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	<b>g<sub>s</sub></b> ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	<b>C<sub>i</sub></b> ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol aire}^{-1}$ )	<b>E</b> ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )
Fecha	2	32.81**	0.2214**	4262.17**	114.97**
Tratamiento	3	10.09**	0.0172*	783.90*	8.50*
Fecha*tratamiento	6	2.55*	0.0128*	392.99*	5.32*
CV (%)		15.7	38.1	6.051	22.82

\*\*Altamente significativo al 0.01% de probabilidad; \*Significativo al 0.05% de probabilidad. FV= Fuente de variación; GL= Grados libertad; A= Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>; g<sub>s</sub>= Conductancia estomática; C<sub>i</sub>= CO<sub>2</sub> intercelular; E= Transpiración.

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Cuadro 5) para las variables peso seco de raíz y de vástago, en la fuente de variación tratamiento, no presentaron diferencias significativas. Esto indica que los diferentes tratamientos con NPsCuO, no alteró la expresión de estas variables. Tomando en cuenta las diferencias en la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> encontradas en el estudio fisiológico, se hubiera esperado al menos diferencias entre tratamientos para la variable peso seco del vástago, situación que no ocurrió, ya que al presentarse mayor tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, se puede reflejar como un incremento en la biomasa.

**Cuadro 5.** Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables peso seco de raíz y de vástago.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>Peso seco de vástago (g planta<sup>-1</sup>)</b>	<b>Peso seco de raíz (g planta<sup>-1</sup>)</b>
Tratamiento	3	0.1331 <sub>NS</sub>	11.5525 <sub>NS</sub>
Error	28	4.2428	55.2114
CV (%)		28.7381	20.3626

FV= Fuentes de Variación; GL= Grados de Libertad; Error= Error Experimental; CV= Coeficiente de Variación; NS= Diferencias no Significativas

En la comparación de medias por Fecha (Cuadro 6), para las variables AP y DT, se observó que a medida que avanzó el tiempo (Fecha), las plantas avanzaron en su fenología y por ende en su desarrollo de follaje, esto representados en valores ascendentes en ambas variables (AP y DT). En este sentido, la luz a través del tiempo ejerce un efecto directo sobre el crecimiento, por medio del proceso de fotosíntesis, por el cual las plantas obtienen energía para producir biomasa, inducir el ciclo de crecimiento, y permitir un desarrollo sano.

Aproximadamente, el 40% de la masa seca de las plantas consiste en carbono fijado mediante la fotosíntesis. Una vez que los productos de la fotosíntesis son convertidos en celulosa, se habla de secuestro de carbono (Buckeridge, 2008). El crecimiento en las plantas está profundamente ligado con el balance en las rutas metabólicas que controlan, por ejemplo, la producción de sacarosa (transporte para crecimiento) o la producción de almidón (reserva), sincronizadas entre sí. Así, las alteraciones en las

condiciones ambientales generalmente producen cambios en los modelos de crecimiento de las plantas.

Reportes sobre la aplicación de las NPs (Pb, Cd, Cu, Zn, Ni) en diferentes cultivos, han evidenciado que incrementan el crecimiento de las plantas, el contenido nutricional y la actividad enzimática (Engates y Shipley, 2011). De acuerdo a la literatura, algunas NPs de CuO y de ZnO afectan de manera positiva la eficiencia de diversas fitohormonas, especialmente del ácido indolacético, el cual promueve la división celular y la elongación, incrementando la velocidad de crecimiento en las plantas; además de activar la biosíntesis de ácido salicílico, favoreciendo su acción fitoestimulante (Wang *et al.*, 2012).

Trabajos realizados con zinc como nanofertilizante en dosis de 10 mg L<sup>-1</sup> ha promovido mayor crecimiento en plantas de mijo (*Pennisetum americanum*), mayor producción de biomasa seca, longitud de raíz, contenido de clorofila y rendimiento de grano (Tarafdar *et al.*, 2014). Por otra parte, otros nanomateriales como las zeolitas, nanoarcillas, nanozeolitas y nanominerales, se están utilizando para mejorar la retención de agua, como acarreadores de nutrientes, y para la recuperación de suelos contaminados por fertilizantes y pesticidas. Estos nanomateriales promueven la germinación de semillas, crecimiento de las plantas, fijación del P y N (Rameshaiah y Pallavi, 2015).

**Cuadro 6.** Comparación de medias por Fecha de variables agronómicas evaluadas en invernadero en plantas de tomate tratadas con NPsCuO.

<b>Fecha</b>	<b>AP (cm)</b>	<b>DT (mm)</b>
Agosto 26	55.100 d	7.118 d
Sept. 02	59.672 cd	7.912 bc
Sept. 08	63.353 bc	7.434 cd
Sept. 29	69.734ab	8.628a
Oct. 06	72.988a	8.390ab
Media	64.169	7.896
Tukey	7.629	0.531

AP=Altura de Planta; DT= Diámetro de Tallo; Sept= Septiembre; Oct= Octubre; Medias con la misma literal son estadísticamente iguales.

La comparación de medias por Fecha (Cuadro 7), para las variables PF y DF muestran valores estadísticamente diferentes, disminuyendo en magnitud en el segundo y en el cuarto corte. Al parecer se presentó deficiencia, sin embargo, la planta logró recuperarse y producir frutos de mayor dimensión y peso para el tercer corte. Al cuarto corte, nuevamente se redujo el tamaño de los frutos. El peso por fruto varió en promedio de 4.603 g (segundo corte) a 30.557 g (primer corte).

En un trabajo similar con plantas de cilantro, se aplicaron productos a base de cobre, entre ellos una nanopartícula de Cu y otra de óxido de cobre, observando que todos los tratamientos modificaron la acumulación de nutrientes en brotes excepto Fe y Ni. Los resultados mostraron, que a pesar de que se aplicaron bajas concentraciones (20 mg kg<sup>-1</sup>) de NPsCu, se afectaron las cualidades nutricionales del cilantro, las cuales pudieran tener un impacto en la salud humana (Zuversa-Mena *et al.*, 2015) por la introducción de Cu en la cadena alimentaria.

La toxicidad del cobre en las plantas depende principalmente de la especie de la planta y las condiciones del suelo o sustrato.

Diversos estudios han demostrado que tanto las NPs de carbón, como las metálicas, son capaces de producir estrés en las plantas, generando un exceso de ROS, que pueden afectar la síntesis de proteínas, lípidos, carbohidratos y las moléculas de ADN. Las NPs pueden también alterar la tasa fotosintética, la fluorescencia fotoquímica y el rendimiento cuántico en las plantas, debido a las interacciones de estas con los fotosistemas I y II, ya que estudios han demostrado que las clorofilas transfieren la energía a las NPs (Olejnik *et al.*, 2013; Rico *et al.*, 2015).

**Cuadro 7.** Comparación de medias por Fecha para las variables peso y diámetro de fruto en plantas de tomate tratadas con (NPsCuO).

<b>Fecha</b>	<b>PF (g)</b>	<b>DF (mm)</b>
Septiembre 19	30.557a	37.886a
Octubre 10	4.603 c	18.648 c
Octubre 20	20.417 b	30.165 b
Media	13.945	25.519
Tukey	1.857	1.259

Medias con la misma literal son significativamente iguales; g=gramos; mm=milímetros.

En la comparación de medias (Cuadro 8) por tratamiento, en las variables PF y DF, en las dosis 25 y 50 ppm, se observó reducción de peso y diámetro de frutos, por otro lado, comparando el testigo (0.0 ppm) y el tratamiento de 100 ppm en ambas variables, expresan ser significativamente iguales, aunque el tratamiento 100 ppm en la variable PF, superó al testigo por 0.183 g, sucediendo lo contrario en DF, ya que el testigo superó a la dosis de 100 ppm, por 0.33 mm. Por lo tanto, se puede deducir que a concentraciones bajas de NPsCuO se inhibe el desarrollo de frutos por deficiencia de Cu, mientras que a concentraciones altas (100 ppm), se tiene un comportamiento estadísticamente igual al testigo.

Algunos estudios se han enfocado en el impacto de las NPs en la calidad de la fruta y suplementos alimenticios. Resultados muestran que algunos azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos y ácidos grasos en frutos de pepino, incrementaron o decrecieron por la aplicación de diferentes concentraciones de NPs de Cu en suelo, además de cambiar la concentración de varios metabolitos como metilnicotinamida (MNA), trigonelina, imidazol, y quinolinolato (Zhao *et al.*, 2016).

La deficiencia de Cu puede afectar el proceso reproductivo (formación de semillas y de frutos) aún más que el crecimiento vegetativo. En trigo la deficiencia de Cu causa una reducción en el sistema reproductivo, reflejándose en la producción de semillas.

Andersen *et al.* (2016) mencionaron que la aplicación de NPs metálicas (Ti y Ce) tiene diferentes efectos importantes sobre la planta, la germinación y el crecimiento

temprano de la raíz, y estos pueden considerarse parámetros de evaluación para los efectos potenciales a la alta exposición de NPs.

**Cuadro 8.** Comparación de medias por tratamiento para las variables peso y diámetro de fruto, en plantas de tomate tratadas con NPsCuO.

<b>Tratamiento</b> (ppm)	<b>Peso de fruto</b> (g)	<b>Diámetro de fruto</b> (mm)
00	16.252a	27.420a
25	11.436 b	23.589 b
50	12.359 b	24.464 b
100	16.435a	27.090a
Media	13.945	25.519
Tukey	2.167	1.469

ppm=partes por millón; g=gramos; mm; milímetros; Medias con la misma literal son estadísticamente iguales.

En la comparación de medias por tratamiento (Cuadro 9), para la variable AP , se observó que los tratamientos de 25, 50 y 100 ppm, redujeron la altura de planta en comparación al testigo, esto puede indicar una reacción de deficiencia, por lo que sería recomendable evaluar dosis superiores a 100 ppm de NPsCuO. Mientras que para la variable DT, los tratamientos 25, 50 y 100 ppm en comparación al testigo, resultaron estadísticamente iguales, indicando que la aplicación de NPsCuO en diferentes dosis, no afectó el diámetro de tallo, sin embargo, el tratamiento a 25 ppm obtuvo el valor más alto, con diferencia de “0.135 mm” en comparación al testigo. Para mejorar la expresión de esta variable (DT), muy posiblemente se requiere de dosis mayores a 100 ppm.

La mayoría de las NPs tienen efectos en su aplicación, que pueden ser positivos o negativos en los cultivos; lo cual depende del tipo, fuente y tamaño de NPs, y estos a su vez afectan los procesos fisiológicos, morfológicos, bioquímicos y moleculares en las plantas (Muhammad *et al.*, 2016).

Aunque el cobre es un micronutriente esencial, el exceso de cobre puede ser tóxico para las plantas. Exceso de cobre puede inhibir el crecimiento de la planta, causar un daño oxidativo a las células e interferir con el proceso de fotosíntesis. Por ejemplo, cuando se encuentra en exceso, el cobre puede reemplazar al magnesio ( $Mg^{2+}$ ) en la molécula de clorofila y así interferir en el proceso de fotosíntesis.

En un estudio llevado a cabo con NPs de Cu, Zn, Mn y Fe en bajas concentraciones (<50 ppm), las cuales fueron aplicadas a plantas de lechuga dentro de un medio acuoso, los resultados mostraron que las NPs CuO y ZnO fueron ligeramente más tóxicas que la aplicación de iones de Cu y Zn, y que las NPs de FeO y MnO, no solo fueron menos tóxicas que su contraparte, sino que además demostraron un estímulo significativo en porte de plántulas, 12-57 % más de altura (Liu *et al.*, 2016).

En complemento a lo antes señalado, Kaduková *et al.* (2015) reportaron que las NPs de plata (Ag) inhiben en gran medida la germinación de semillas y afecta el desarrollo de plantas. En estudios realizados en plantas de trigo, evaluaron el efecto del tiempo (24, 48, 72, 96 h) y la aplicación de diferentes dosis de NPs con Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0, 5, 25, 50 mg/ml), se encontró que la elongación de la raíz se redujo en 40.2 % a 5 mg/mL, 50.6 % a 25 mg/mL y 54.5 % a 50 mg/mL, después de 90 h. El análisis histoquímico reveló la acumulación de lignina, deposición callosa, y el daño celular en la corteza de la raíz. Por otra parte, los resultados indicaron que las NPs Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> indujeron la fragmentación del ADN considerado como uno de los marcadores importantes de muerte celular programada (Yanik y Vardar, 2015).

**Cuadro 9.** Comparación de medias por tratamiento para las variables altura y diámetro de tallo, en plantas de tomate tratadas con (NPsCuO).

Tratamiento (ppm)	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)
00	70.150a	7.935a
25	63.338 b	8.072a
50	64.778ab	7.792a
100	58.413 b	7.787a
Media	64.169	7.896
Tukey	6.420	0.447

ppm=partes por millón; cm=centímetros; mm; milímetros; Medias con la misma literal son estadísticamente iguales.

En la comparación de medias por Fecha (Cuadro 10), las variables A, g<sub>s</sub>, C<sub>i</sub>, E, varían de acuerdo avanza el tiempo (Fecha), incrementado los valores a través de las etapas fenológicas, en las variables tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, conductancia estomática, CO<sub>2</sub> intercelular y la transpiración. Mientras tanto, las variables A y E para las fechas de septiembre 24 y octubre 24, muestran ser estadísticamente iguales y superiores a la

Fecha de evaluación agosto 24. Por otra parte, las variables  $g_s$  y  $C_i$  indican ser estadísticamente diferentes para la fuente de variación tratamientos, superando en ambos casos la fecha de 24 de octubre.

Esto indica que la aplicación de NPsCuO tiene un efecto diferente en la variable tasa de asimilación de  $CO_2$  y en variables asociadas, a través del tiempo. El cobre posee un importante papel biológico en el proceso de fotosíntesis de las plantas, aunque no forma parte de la composición de la clorofila. Por tanto, el cobre tiene un gran potencial para emplearse en desarrollos tecnológicos sostenibles.

Tanto la deficiencia de Cu, como la toxicidad, pueden ocasionar daños en las plantas relacionados con síntomas característicos. Una cantidad insuficiente de Cu en las plantas puede producir fenómenos que afectan, en primer lugar, a los tejidos jóvenes y reproductivos. Las plantas sometidas a deficiencia de Cu sufren una reducción en el crecimiento, clorosis de las hojas jóvenes, curvatura de los márgenes de las hojas, daño en los meristemos apicales, disminución de la formación de frutos, defectos en la pared celular, disminución del desarrollo y viabilidad del polen y desarrollo embrionario incorrecto.

El exceso de Cu también afecta a la actividad fotosintética, causa peroxidación de lípidos, daños en el ADN y proteínas, afecta a la adquisición de otros nutrientes esenciales.

**Cuadro 10.** Comparación de medias por Fecha para variables relacionadas con la tasa de asimilación de  $CO_2$ , evaluadas en plantas de tomate en ensayo de invernadero tratadas con (NPsCuO).

Fecha	A ( $\mu\text{mol de } CO_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	$g_s$ ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	$C_i$ ( $\mu\text{mol } CO_2 \text{ mol aire}^{-1}$ )	E ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )
Agosto 23	4.533 b	0.118 c	300.435 c	4.570 b
Sept. 24	6.264a	0.216 b	314.042 b	8.248a
Oct. 24	6.802a	0.312a	327.375a	8.563a
Media	5.885	0.217	314.140	7.163
Tukey	0.646	0.058	13.29	0.6463

Valores con la misma literal dentro de una columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05). A= Tasa de asimilación de  $CO_2$ ;  $g_s$ = Conductancia estomática;  $C_i$ =  $CO_2$  intercelular; E= Transpiración; Sept= Septiembre; Oct= Octubre.

En la comparación de medias por tratamiento (Cuadro 11), las variables  $g_s$  y  $E$  muestran valores estadísticamente iguales en los tratamientos de 0 ppm (testigo), 50 y 100 ppm, excepto el tratamiento 25 ppm que reduce estos parámetros. Esto demuestra que a concentraciones bajas de NPsCuO disminuye la conductancia estomática y la tasa de transpiración. Lo anterior deja ver que, a una dosis de 25 ppm, los estomas están más cerrados, reduciendo la pérdida de agua a través de la transpiración, sin afectar el  $C_i$ . Lo anterior es importante, ya que el  $C_i$  se encuentra disponible para que sea fijado por la enzima Rubisco.

La respuesta de la variable  $C_i$ , indica que la dosis de los tratamientos en estudio, no afectó la disponibilidad de  $CO_2$  en el mesófilo, ya que estos, son estadísticamente iguales, sin embargo, numéricamente el "testigo" obtuvo los valores más altos. La variable tasa de asimilación de  $CO_2$  ( $A$ ), indica que a concentraciones de 50 y 100 ppm se presentaron valores estadísticamente superiores, mientras que, para la dosis de 25 ppm, se obtuvo valores más bajos, en comparación al testigo, siendo 100 ppm el que manifestó los valores más altos para esta variable. Lo anterior indica que a dosis bajas se presentan deficiencias de Cu y se reduce  $A$ .

**Cuadro 11.** Comparación de medias por tratamiento para variables relacionadas con la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>, evaluadas en plantas de tomate en ensayo de invernadero tratadas con (NPsCuO).

<b>Tratamiento</b> (ppm)	<b>A</b> ( $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	<b>g<sub>s</sub></b> ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	<b>C<sub>i</sub></b> ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol aire}^{-1}$ )	<b>E</b> ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )
00	5.358 bc	0.247a	321.722a	7.588a
25	5.193 c	0.173 b	306.000a	6.106 b
50	6.123ab	0.225ab	315.889a	7.395ab
100	6.923a	0.223ab	312.882a	7.588a
Media	5.899	0.217	314.123	7.169
Tukey	0.820	0.073	16.877	1.451

Valores con la misma literal dentro de una columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

A= Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>; g<sub>s</sub>= Conductancia estomática; C<sub>i</sub>= CO<sub>2</sub> intercelular; E= Transpiración

La comparación de medias por tratamiento (Cuadro 12), para las variables peso seco de raíz y de vástago expresan ser estadísticamente iguales, sin embargo, los tratamientos con 25 y 100 ppm, superaron a los demás tratamientos incluyendo al testigo, esto en ambas variables.

El Cu desempeña un papel en los procesos redox de la fisiología de la planta. Algunas proteínas que contienen Cu desempeñan una gran importancia en procesos como la fotosíntesis, respiración, desintoxicación de radicales superóxido y lignificación, en caso de deficiencia de Cu, la actividad de estas enzimas se reduce. La reducción del transporte fotosintético de electrones, disminuye la tasa de fijación de CO<sub>2</sub>, disminuyendo así el contenido de almidón y de carbohidratos solubles. Esta es la principal causa por la cual las plantas no acumulan producción de materia seca.

**Cuadro 12.** Comparación de medias por tratamiento de las variables peso seco de vástago y raíz en plantas de tomate tratadas con (NPsCuO)

<b>Tratamiento</b> (ppm)	<b>PSV</b> (g)	<b>PSR</b> (g)
00	7.140 a	35.071 a
25	7.298 a	38.011 a
50	7.233 a	36.449 a
100	7.000 a	36.431 a
Media	7.167	36.490
Tukey	2.812	10.144

PSV= Peso seco de vástago; PSR= peso seco de raíz; ppm=partes por millón; g=gramos; Medias con la misma literal son significativamente iguales.

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, indican que las NPsCuO tienen un efecto estadísticamente igual a la aplicación de iones de Cu disponibles en la solución Hoagland. Ya que las diferentes variables evaluadas, mostraron valores estadísticamente igual al testigo, al cual se le aplicó Cu en forma de micronutriente. En las plantas, el cobre activa ciertas enzimas implicadas en la síntesis de lignina y es esencial para diversos sistemas enzimáticos. También es necesario en el proceso de la fotosíntesis, esencial para la respiración de las plantas y coadyuvante de éstas en el metabolismo de carbohidratos y proteínas. La

deficiencia de Cu produce también una reducción de la actividad fotosintética y aumento de la movilización y adquisición de Cu. La deficiencia de Cu puede causar el exceso de otros metales en la célula y, consiguientemente, las proteínas que carecen de su cofactor nativo son susceptibles de incorporar un metal incorrecto.

En las interacciones entre Fechas de evaluación y dosis de tratamientos, se observó lo siguiente (Anexos):

Figura 1. Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> por tratamiento y por fecha. Al incrementar a una concentración de NPsCuO (100 ppm), se incrementó la asimilación de CO<sub>2</sub>, indicando una mejor eficiencia del mesófilo de la hoja.

Figura 2. Conductancia estomática por tratamiento y por fecha. Menor conductancia estomática en el mes de agosto, debido a temperaturas dentro del invernadero más altas. A 100 ppm, se mantuvo constante la apertura estomática, en los meses de agosto y septiembre. La apertura de los estomas permite la entrada y salida de gases a la hoja.

Figura 3. CO<sub>2</sub> intercelular por tratamiento y por fecha. A 100 ppm de NPsCuO, se mantuvo constante en los meses de septiembre y octubre. La concentración de C<sub>i</sub> es importante, ya que indica la cantidad de CO<sub>2</sub> disponible en el mesófilo de la hoja, para ser fijado por la enzima Rubisco.

Figura 4. Tasa de transpiración por dosis y fecha de determinación. Menor tasa de transpiración relacionada con menor apertura estomática en el mes de agosto, debido a temperaturas más altas dentro del invernadero.

Figura 5. Peso de fruto por tratamiento y por fecha. Reducción importante en el mes de octubre, posiblemente debido a deficiencia de Cu y efecto de ambiente.

Figura 6. Diámetro de fruto por tratamiento y por fecha. En el mes de octubre se redujo el tamaño de los frutos, posiblemente por efecto de ambiente y deficiencia de Cu.

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis de varianza, se observó en las variables altura de planta, diámetro de tallo, peso y diámetro de fruto, que la aplicación de NPsCuO, influyó en la expresión de estos parámetros.

En general, a dosis bajas de NPsCuO (25 ppm) se observó deficiencias, resultando en frutos pequeños, de menor diámetro y peso. Al incrementar la dosis a 100 ppm, se aumentó el tamaño de los frutos, mostrando su efecto positivo en la división y en elongación celular.

Las variables relacionadas con la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> (A, g<sub>s</sub>, C<sub>i</sub>, y E), de igual forma con la aplicación de diferentes dosis de NPsCuO, mostraron que al incrementar las dosis de NPsCuO, se incrementó la fotosíntesis, sin afectar considerablemente la tasa de transpiración.

Para las variables peso seco de raíz y de vástago, los diferentes tratamientos con NPsCuO aplicados a plantas de tomate, no modificaron significativamente la acumulación de biomasa.

## VI. LITERATURA CITADA

- Alvarado, R., F. Solera, and J.R Vega-Baudrit. 2014. Síntesis química de nanopartículas de óxido de zinc y de plata estabilizadas con quitosano. Evaluación de su actividad antimicrobiana. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 15(3): 134-148.
- Andersen, P., G. King, M. Plocher, M. Storm, L. Pokhrel, M.G. Johnson y P.T. Rygielwicz. 2016. Germination and early plant development of ten plant species exposed to titanium dioxide and cerium oxide nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry* 35(9):2223-2229.
- Aslani, F., S. Bagheri, N. Muhd Julkapli, A. Shukor Juraimi, F.S. Golestan Hashemi y A. Baghdadi. 2014. Effects of engineered nanomaterials on plants growth: an overview. *The Scientific World Journal* Volume 2014, Article ID 641759, 28 p. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/641759>.
- Ball, P. 2002. Natural strategies for the molecular engineer. *Nanotechnology* 13:15 – 28.
- Brunner, T.J., P. Wick, P. Spohn, P. Grass y R.N. Limbach. 2006. In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.* 40:4374-4381.
- Buckeridge, M. S. 2008. Seqüestro de carbono, cana-de-açúcar e o efeito Cinderela. Versión en línea: [<http://www.comciencia.br/comciencia/?section=8&edicao=23&id=258>].
- Buu, Q., T. Hien, H. Chau, X. Tin, T. Van, T. Duong y T. Ha. 2014. Effects of nano crystalline powders (Fe, Co and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (vietnamese species DT-51). *Vietnam Academy of Science and Technology* 5:1-7.
- Buzea, C., I.I. Pacheco, and K. Robbie .2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases* 2:17–71.
- Contreras, S. 2002. The international seed industry. In: proceedings international seed seminar: Trade, Production and Technology. pp. 1-9.
- Engates, K.E. y H.J. Shipley. 2011. Adsorption of Pb, Cd, Cu, Zn, and Ni to titanium dioxide nanoparticles: effect of particle size, solid concentration, and exhaustion. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(3), 386-395.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2011. Semillas en emergencia. Manual técnico. Roma, Italia. 81 p.
- Foltête, A.S., Masfaraud, J.F., Bigorgne, E., Nahmani, J., Chaurand, P., Botta, C. y Cotelle, S. 2011. Environmental impact of sunscreen nanomaterials: ecotoxicity and

genotoxicity of altered TiO<sub>2</sub> nanocomposites on *Vicia faba*. Environmental Pollution, 159(10), 2515-2522.

García, A., Espinosa, R., Delgado, L., Casals, E., González, E., Puentes, V. y Sánchez, A. 2011. Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and iron oxide nanoparticles using standardized tests. Desalination, 269(1), 136-141.

Ghosh, M., Jana, A., Sinha, S., Jothiramajayam, M., Nag, A., Chakraborty, A. y Mukherjee, A. 2016. Effects of ZnO nanoparticles in plants: cytotoxicity, genotoxicity, deregulation of antioxidant defenses, and cell-cycle arrest. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 807, 2532.

Grillo, R., Abhilash, P.C. y Fraceto, L.F. 2016. Nanotechnology applied to bio-encapsulation of pesticides. Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 16: 1231-1234.

Hatami, M., M. Ghorbanpour y H. Salehiarjomand. 2014. Nano-anatase TiO<sub>2</sub> modulates the germination behavior and seedling vigority of some commercially important medicinal and aromatic plants. J. Biol. Environ. Sci. 8(22): 5359.

Kaduková, J., O. Velgosová, A. Mražíková, R. Marcinčáková y E. Tkáčová. 2015. Assessment of biologically synthesized Ag nanoparticles toxicity against *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Parachlorella kessleri* and *Sinapis alba*. Nova Biotechnologica et Chimica 14(1):69-77.

Kah, M., S. Beulke, K. Tiede, and T. Hofmann. 2012. Nanopesticides: state of knowledge, environmental fate, and exposure modeling. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. pp 1823- 1826. DOI: 10.1080/10643389.2012.671750.

Karunaratne, D.N. 2007. Nanotechnology in medicine. Journal of Natural Science. 35(3): 149-152.

Khodakovskaya, M., K. De Silva, A.S Biris, E. Dervishi, H. Villagarcia. 2012. Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. ACS Nano 6(3):2128–2135.

Khodakovskaya, M., M. Mahmood, Y. Xu, Z. Li, F. Watanabe y A.S. Biris. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth ACS Nano 3:10. 3221-3227

Lei, Z., Mingyu, S., Xiao, W., Chao, L., Chunxiang, Q., Liang, C. y Fashui, H. 2008. Antioxidant stress is promoted by nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-B radiation. Biol. Trace Elem. Res. 121:69-79.

Li, P., Du, Y., Huang, L., Mitter, N., y Xu, Z. P. 2016. Nanotechnology promotes the RyD of new generation micronutrient foliar fertilizers. RSC Advances, 6(73), 69465-69478.

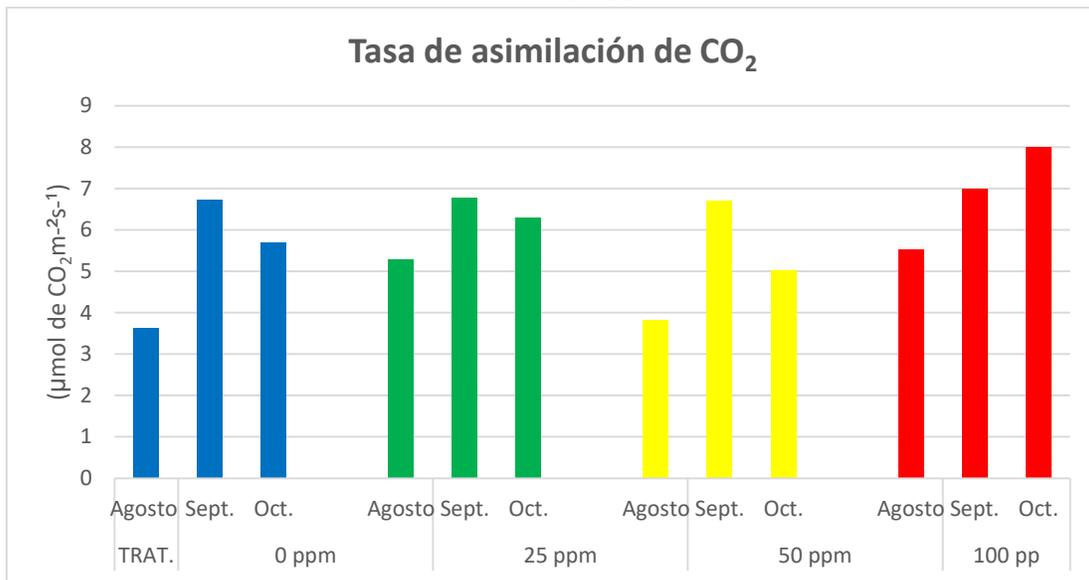
- Lira Saldivar, R.H. and B. Méndez Arguello. 2016. Agronotecnología. Nueva frontera de la revolución verde. CIQA. Saltillo, México. pp.11-277.
- Lira-Saldivar, R.H, A. Hernández-López, L.A. Valdez-Aguilar, L. Ibarra-Jiménez, A. Cárdenas-Flores, and M. Hernández-Suárez. 2014. *Azospirillum brasilense* and *Glomus intraradices* co-inoculation stimulate growth and yield of cherry tomato under shade house conditions. *Phyton Int. J. Exp. Botany*. 83: 133-138.
- Liu, Q., Zhang, X., Zhao, Y., Lin, J., Shu, C., Wang, C. y Fang, X. 2013. Fullerene-induced increase of glycosyl residue on living plant cell wall. *Environ. Sci. Technol.* 47:7490-7498.
- Lugo-Medina, E., C. García-Gutiérrez y R. Ruelas-Ayala. 2010. Nanotecnología y nano encapsulación de plaguicidas. *Revista Ra Ximhai*. 6 (1): 63-67.
- Medina, C., M. J. Santos-Martínez, A. Radomski, O. I. Corrigan and M. W. Radomski. *Br J. Pharmacol* 2007. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. 150: 552558.
- Mingyu, S., W. Xiao, L. Chunxiang, Q. Xiaoqing, L. Liang, C. Hao, and H. Fashui. 2007. Promotion of energy transfer and oxygen evolution in spinach photosystem II by nano-anatase TiO<sub>2</sub>. *Biol Trace Elem Res* 119:183–192.
- Mohammadi, R., Maali-Amiri, R., Mantri, N.L. 2014. Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on oxidative damage and antioxidant defense systems in chickpea seedlings during cold stress *Rus. J. Plant Physiol.*, 61(1):768– 775
- Monica, R.C. y R. Cremonini. 2009. Nanoparticles and higher plants. *Caryologia* 62(2): 161-165.
- Mukherjee, M. y A. Mahapatra. 2009. Effect of coinage metal nanoparticles and zwitterionic surfactant on reduction of [Co(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>Cl](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> by iron (III). *Colloid Surface*. 350: 1-7.
- Nuruzzaman, M., M. M. Rahman, Y. Liu, and R. Naidu. 2016. Nanoencapsulation, nano-guard for pesticides: a new window for safe application. *Journal of agricultural and food chemistry*. 64: 1447-1483.
- Olejnik, M., Krajnik, B., Kowalska, D., Twardowska, M., Czechowski, N., Hofmann, E. y Mackowski, S. 2013. Imaging of fluorescence enhancement in photosynthetic complexes coupled to silver nanowires. *Appl. Phys. Lett.* 102:083703-083707.
- Prasad, R., V. Kumar, and K.S. Prasad. 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. *African Journal of Biotechnology*. 13: 705-713.
- Rameshaiah, G. N. y Pallavi, S. 2015. Nano fertilizers and nano sensors—an attempt for developing smart agriculture. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(1), 314-320.

- Rao, S. y 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.
- Raskar, S.V. y Laware, S.L. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. International Journal Current Microbiology Applied Science. 3:467-473.
- Resham, S., M. Khalid, and A.G. Kazi. 2015. Nanobiotechnology in agricultural development. In Plantomics: The Omics of Plant Science. 683-698.
- Rezaei, F., Moaveni, P., Mozafari, H., y Morteza, E. 2015. Investigation of different concentrations and times of nano-TiO<sub>2</sub> foliar application on traits of soybean (*Glycine max L.*) at Shahr-e-Qods, Iran. International Journal of Biosciences (IJB), 6(5), 109-114.
- Rico, C.M., Peralta-Videa, J.R. y Gardea-Torresdey, J.L. 2015. Chemistry, biochemistry of nanoparticles, and their role in antioxidant defense system in plants. In Nanotechnology and Plant Sciences (pp. 117). Springer International Publishing.
- Rizwana, M., Alia, S., Farooq, M., Sik, Y., Adreesa, M., Ibrahima, M., Zia-ur-Rehmand, M., Faride, M., Abbasa, F. 2016. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops. A critical review. Journal of Hazardous Materials. 1:1-5.
- Ruiz Torres, N.A., J.I. García López, R.H. Lira Saldívar, I. Vera Reyes, y B. Méndez Argüello. 2016. Efecto de nanopartículas metálicas y derivadas del carbón en la fisiología de semillas. In R. H. Lira Saldívar, & B. Méndez Argüello, Agronano Tecnología Nueva frontera de la Revolución Verde. Saltillo, Coah. UAAAN. pp. 42-60.
- Savage, N., Ávalos, A., Haza, A I., Mateo, D. 2007. Silver nanoparticles: Applications and toxic risks to human health and environment. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias; Madrid Tomo 7, N.º 2, 1-23.
- Scott, N. y Chen. H. 2013. Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. Industrial Biotechnology. 9: 17-18.
- Sierra, C. 2016. Una mirada a la relación entre el cobre, el suelo y las plantas. El Mercurio. S.A.P.
- Society, The Royal. 2004. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. Plymouth, UK: Latimer Trend Ltd.
- Song, G., Gao, Y., Wu, H., Hou, W., Zhang, C. y Ma, H. 2012. Physiological effect of anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles on *Lemna minor*. Environmental Toxicology and Chemistry, 31(9), 2147-2152.

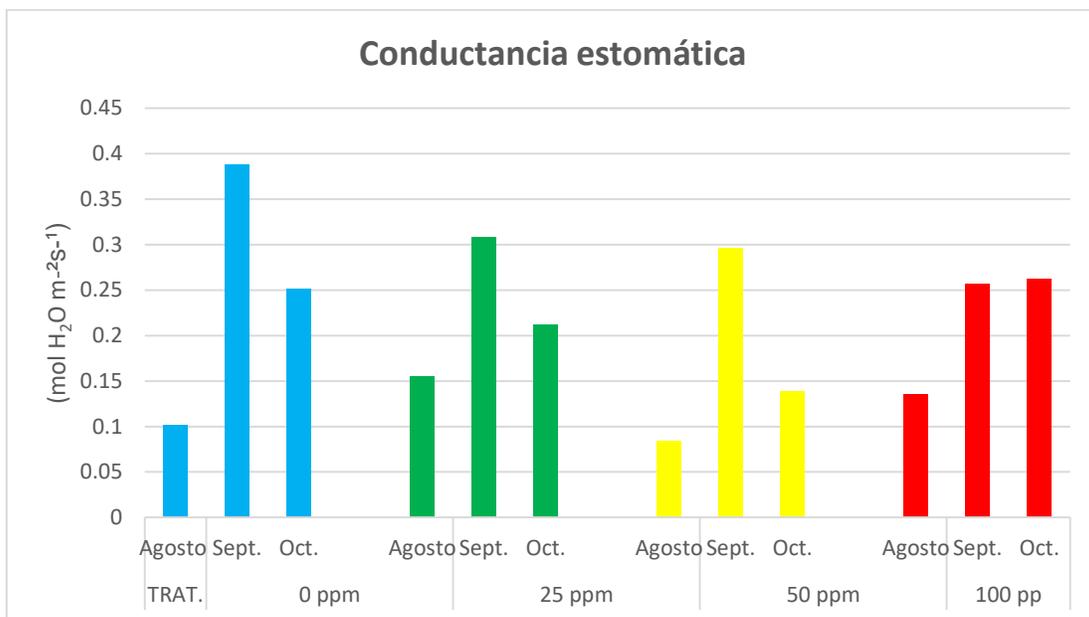
- Tang, Y., J. Zhao, G. Nie, L. Xu and B. Xing. 2016. Oxidative stress induced toxicity of CuO nanoparticles and related toxicogenomic responses in *Arabidopsis thaliana*. *Environment Pollution*, 212, 605-614.
- Tarafdar, J. C., Raliya, R., Mahawar, H., & Rathore, I. 2014. Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*, 3(3), 257-262.
- Walker N., J. Bucher. 2009. A 21st century paradigm for evaluating the health hazards of nanoscale materials? *Toxicological Sciences*. 110(2): 250-251. DOI: 10.1093/toxsci/kfp106
- Wang, S., H. Liu, Y. Zhang, H. Xin. 2015. Effect of CuO nanoparticles on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots of rice. *Environmental Toxicological Chemistry*, 34: 554-561.
- Wang, Z., L. Xu, J. Zhao, X. Wnag, J. White y B. Xing. 2016. CuO nanoparticle interaction with *Arabidopsis thaliana*: toxicity, parent-progeny transfer, and gene expression. *Environmental Science & Technology*. 50:6008-6016.
- Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., White, J.C., Xing, B., 2012. Xylem and phloem based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays L.*). *Environ. Sci. Technol.* 46, 4434–4441.
- Woo-Mi, L., Y. Joo, H. Yoon, and H. Seok. 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.
- Xue, J., Z. Luo, L. Li, P. Ding, Y. Cui, Q. Wu. 2014. A residue-free green synergistic antifungal nanotechnology for pesticide thiram by ZnO nanoparticles. *Scientific Reports*. 4: 1-9.
- Yadollahi, A., Arzani, K. y Khoshghalb, H. 2009. The role of nanotechnology in horticultural crops postharvest management. In *Southeast Asia Symposium on Quality and Safety of Fresh and Fresh-Cut Produce* 875. 49-56pp.
- Yanik, F. y F. Vardar. 2015. Toxic effects of aluminum oxide (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles on root growth and development in *Triticum aestivum*. *Water Air Soil Pollut.* p. 3-13.
- Yin, Y., Guo, Q., Han, Y. Wang, L. y Wan, S. 2012. Preparation, characterization and nematicidal activity of lansiumamide B nano-capsules. *Journal of Integrative Agriculture*. 11: 1151-1158.
- Zhao, L., Hu, J., Huang, Y., Wang, H., Adeleye, A., Ortiz, C., y Keller, A. A. 2016. 1 H NMR and GC-MS based metabolomics reveal nano-Cu altered cucumber (*Cucumis sativus*) fruit nutritional supply. *Plant Physiology and Biochemistry*.

Zuverza-Mena, N., Medina-Velo, I. A., Barrios, A. C., Tan, W., Peralta-Videla, J. R., y Gardea-Torresdey, J. L. 2015. Copper nanoparticles/compounds impact agronomic and physiological parameters in cilantro (*Coriandrum sativum*) *Environmental Science: Processes y impacts* 17(10), 1783-1793.

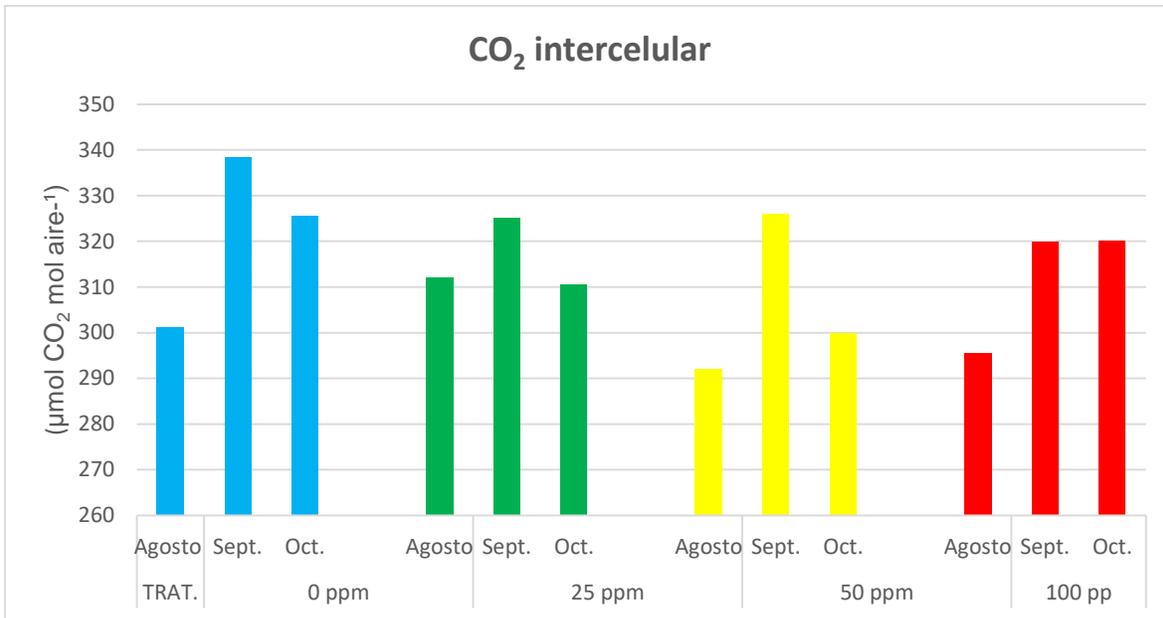
## VII. Anexos



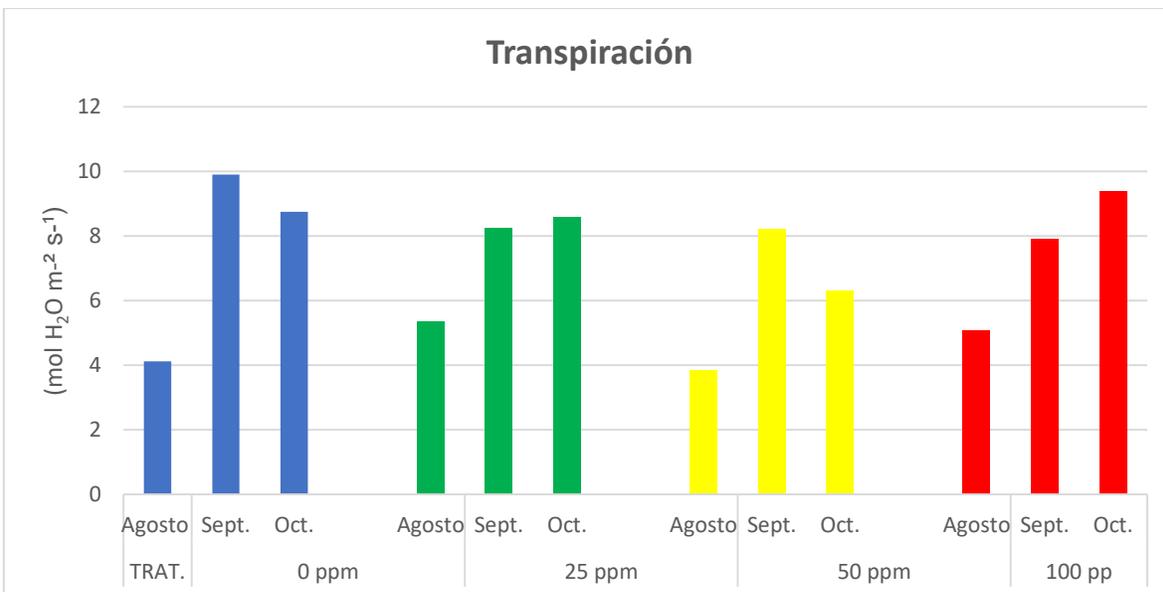
**Figura 1.** Tasa de asimilación de CO<sub>2</sub> por tratamiento y por fecha. Se observó que a una concentración mayor de NPsCuO (100 ppm), se incrementó la asimilación de CO<sub>2</sub>, indicando una mejor eficiencia del mesófilo de la hoja.



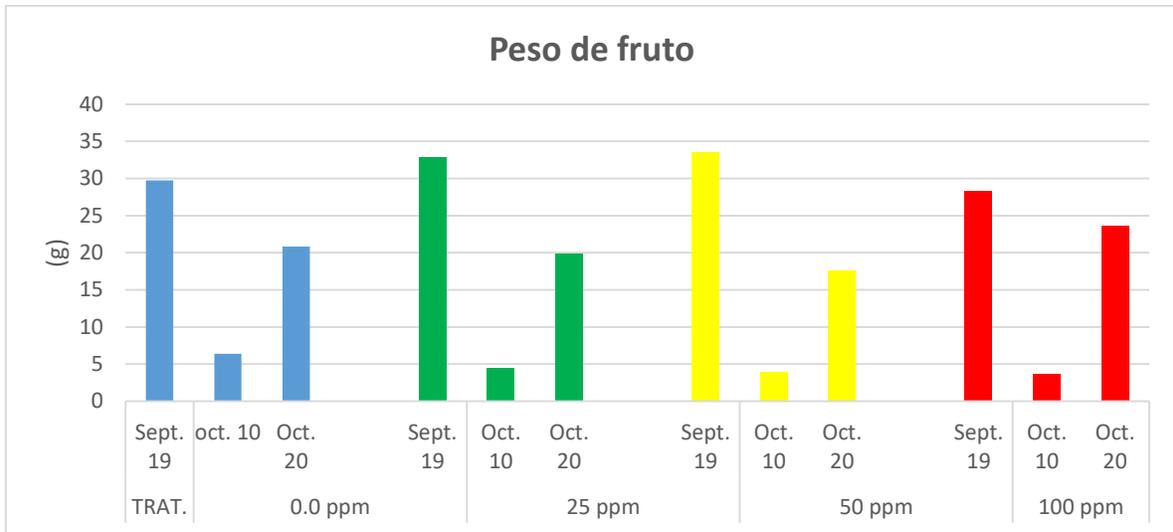
**Figura 2.** Conductancia estomática por tratamiento y por fecha. Menor conductancia estomática en el mes de agosto, debido a temperaturas más altas. A 100 ppm, se mantuvo constante en los meses de agosto y septiembre.



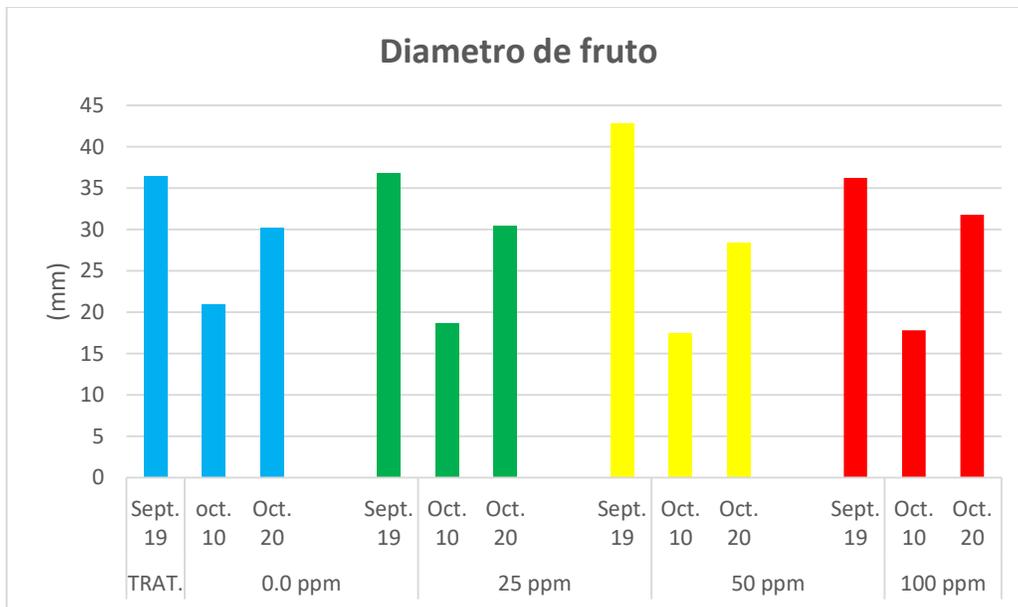
**Figura 3.** CO<sub>2</sub> intercelular por tratamiento y por fecha. A 100 ppm se mantuvo constante en los meses de septiembre y octubre.



**Figura 4.** Tasa de transpiración por dosis y fecha de determinación. Menor tasa de transpiración relacionada con menor apertura estomática en el mes de agosto, debido a temperaturas más altas.



**Figura 5.** Peso de fruto por tratamiento y por fecha. Reducción importante en el mes de octubre, posiblemente debido a deficiencia de Cu y efecto de ambiente.



**Figura 6.** Diámetro de fruto por tratamiento y por fecha. En el mes de octubre se redujo el tamaño de los frutos, posiblemente por efecto de ambiente y deficiencia de Cu.