

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



**APLICACIÓN FOLIAR DE NANOPARTÍCULAS DE ZINC, COBRE Y HIERRO
COMO ESTIMULADORES EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE
TOMATE**

Tesis

Que presenta **KARINA MORENO LEÓN**

como requisito parcial para obtener el Diploma como

**ESPECIALISTA EN MANEJO SUSTENTABLE DE RECURSOS NATURALES
DE ZONAS ÁRIDAS Y SEMIÁRIDAS**

Saltillo, Coahuila

Julio 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



APLICACIÓN FOLIAR DE NANOPARTÍCULAS DE ZINC, COBRE Y HIERRO
COMO ESTIMULADORES EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE
TOMATE

Tesis

Que presenta KARINA MORENO LEÓN
como requisito parcial para obtener el Diploma como
ESPECIALISTA EN MANEJO SUSTENTABLE DE RECURSOS NATURALES
DE ZONAS ÁRIDAS Y SEMIÁRIDAS


Dra. Rosa María Garza Quiñones
Nombre del Director UAAAN


Dra. Esmeralda Mendoza Mendoza
Nombre del Director Externo

Saltillo, Coahuila

Julio 2017

APLICACIÓN FOLIAR DE NANOPARTÍCULAS DE ZINC, COBRE Y HIERRO
COMO ESTIMULADORES EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE
TOMATE

Tesis


Elaborada por KARINA MORENO LEÓN como requisito parcial para obtener el
diploma de Especialista en Manejo Sustentable de Recursos Naturales de
Zonas Áridas y Semiáridas con la supervisión y aprobación del Comité de
Asesoría



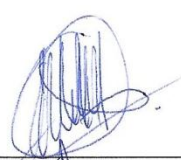
Dra. Rosa María Garza Quiñones
Asesor Principal




Dra. Silvia Yudith Martínez Amado
Asesor



Dra. Susana González Morales
Asesor



Dra. Esmeralda Mendoza Mendoza
Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Julio 2017

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo brindado durante la especialidad pues me permitió realizar el presente proyecto y continuar con mi formación académica.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por abrirme sus puertas nuevamente y permitirme alcanzar un escalón más en mi formación profesional.

A la Dra. Rosa María Garza Quiñones por el apoyo brindado en todo momento para el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Silvia Yudith Martínez Amador por brindarme su apoyo para la realización de este proyecto.

A la Dra. Susana González Morales por su tiempo y apoyo brindado en cada etapa de este proyecto además de la facilitar los materiales necesarios.

A la Dra. Esmeralda Mendoza Mendoza por el apoyo brindado en el desarrollo de este trabajo en la síntesis y caracterización de las nanopartículas, por su apoyo personal, por siempre estar disponible para ayudarme en lo necesario.

Al Dr. Luis Alfonso García y a la M.C. Bertha Puente por el apoyo brindado para la realización de este trabajo de tesis.

Al Dr. Juan Munguia por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

Al Dr. Jesús Valdés Reyna por su tiempo y dedicación para la formación de cada estudiante.

Al nucleó básico de la de la especialidad por compartir con nosotros sus conocimientos y con esto favorecer nuestra formación académica.

A Cony y Lupita por todo su apoyo y atenciones a lo largo de este tiempo.

Al Dr. Antonio Juárez Maldonado por el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

A mis compañeros por compartir sus vivencias y experiencias a lo largo de este camino.

A cada una de esas personas que contribuyeron de una u otra manera para la realización de este trabajo, mil hojas no son suficientes para agradecer su apoyo, a todos mil gracias de todo corazón.

DEDICATORIA

A Dios por caminar a mi lado, guiar mis pasos, cuidar mis sueños darme fuerza y fortaleza para lograr cada una de las metas de mi vida aun cuando parece que todo es tan difícil.

A mis hijas FRIDA Y ALONDRA por enseñarme que el amor a primera vista si existe, a ti FRIDA por caminar conmigo por darme fuerza y fortaleza en cada momento, todos y cada uno de mis sueños tienen razón por ti, gracias por tu tiempo y paciencia por motivarme a ser mejor persona cada día. A ti ALONDRA que aun sin conocerte y sin tenerte en mis brazos me has dado la paciencia que tanta falta me hace para poder lograr los objetivos de mi vida, por estar creciendo en mi vientre y llenar de más amor mi vida. Gracias por llegar en el momento justo a mi vida las amo.

Al ángel que cuida mis sueños incondicionalmente aun sin estar a mi lado por darme tu amor y cariño por permitirme tomar mis propias decisiones aun cuando algunas no han sido las más atinadas por darme tu fortaleza por ser la gran mujer que eres y enseñarme con tu ejemplo a jamás darme por vencida y seguir luchando por mis sueños, gracias mami por tu amor incondicional.

A mis hermanas Cecy y Lucero por estar siempre a mi lado alegrándose con mis triunfos compartiendo sus sueños y proyectos y saber que los limites están en la mente y que somos unas guerreras capaces de lograr todo lo deseado. Gracias por siempre estar ahí o conmigo.

A mi hermano por alegrarse con mis logros porque ni la distancia ni el tiempo han sido razón para estar separados.

A mi papá que aun después de su partida sé que siempre está a mi lado cuidando mis pasos.

A ti William por ser el hombre que eres por tu apoyo incondicional en cada uno de los sueños y proyectos de mi vida, por los planes, los sueños y los fracasos que hemos tenido y pese a mil circunstancias aún estamos juntos compartiendo el amor, los planes y sueños.

A mis amigos que siempre han sido constantes con su apoyo y cariño por que con solo una llamada o un mensaje hicieron de mis días una travesía menos difícil.

A las personitas que siempre me han animado a soñar y luchar por lo que se quiere y que no existen imposibles en la vida.

A la vida por dejarme vivirla, por permitirme disfrutar de sus sabores, olores, fracasos, derrotas y por enseñarme que los tropiezos solo fortalecen mi espíritu y mente.

ÍNDICE

CONTRA PORTADA	ii
HOJA DE FIRMAS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	v
ÍNDICE	vii
LISTADO DE CUADROS	viii
LISTADO DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO	3
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos.....	3
HIPÓTESIS	3
JUSTIFICACIÓN	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
El cultivo de tomate.....	5
Importancia del cultivo de tomate.....	5
Nutrición convencional del cultivo de tomate.....	6
Nanotecnología.....	7
Nanotecnología en la agricultura.....	8
Nanofertilizantes.....	8

Absorción, translocación y efecto de los nanopartículas en las plántulas.....	9
Óxido de Zinc.....	10
Cobre.....	11
Hierro.....	11
Proteínas totales.....	12
Vitamina C o ácido ascórbico.....	12
MATERIALES Y METODOS.....	14
Ubicación del experimento.....	14
Síntesis de nanopartículas.....	14
Molienda mecánica de materiales.....	14
Tratamiento térmico del precursor.....	15
Lavado y caracterización de las NPs.....	15
Experimento en campo.....	17
Cuantificación de Proteínas Totales.....	18
Determinación de vitamina C en hojas.....	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
Diseño experimental.....	21
CONCLUSIONES.....	34
REFERENCIAS.....	35

LISTADO DE CUADROS

Cuadro. 1 Materiales, reactivos y equipos utilizados para la preparación de los nanopartículas.....	16
Cuadro. 2 El cuadro 2 muestra los materiales que se utilizaron para la etapa 2 del trabajo experimental en campo.....	17
Cuadro.3 Materiales reactivos y equipos utilizados en el análisis bioquímico de las muestras.....	18
Cuadro 4. Tratamientos, concentración de NPs, aplicaciones y repeticiones evaluadas en el experimento.....	21
Cuadro 5: Variables agronómicas registradas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p<0.05$).....	25
Cuadro 6: Variables agronómicas registradas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p<0.05$), para el día 11 de mayo de 2017.....	28
Cuadro 7: Variables de peso fresco y seco de tallo, hoja y raíz registradas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p<0.05$).....	31

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Modelo conceptual de liberación de NPs de ZnO de acuerdo a la demanda del cultivo. (Adaptada de Monreal, 2015).....	17
Figura 2 Ubicación geográfica de las instituciones en donde se desarrolló el experimento.....	21
Figura 3. Difractograma de rayos X de las NPs de ZnO preparadas.....	29
Figura 4. Difractograma de rayos X de las NPs de CuO.....	30
Figura 5. Difractograma de rayos X de las NPs de Fe ₂ O ₃ y Fe ₃ O ₄	31
Figura 6: Unidades SPAD evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística (p<0.05).....	32
Figura 7: Conductancia estomática evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística (p<0.05).....	33
Figura 8: Unidades SPAD evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística (p<0.05), para el muestreo 2.....	35
Figura 9: Conductancia estomática evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística (p<0.05) para el segundo muestreo.....	36
Figura 10: Contenido de proteínas totales evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística (p<0.05) para	

el segundo
muestreo.....38

Figura 11 Contenido de vitamina C evaluada en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$) para el segundo
muestreo.....39

RESUMEN

APLICACIÓN FOLIAR DE NANOPARTÍCULAS DE ZINC, COBRE Y HIERRO
COMO ESTIMULADORES EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE
TOMATE

POR

KARINA MORENO LEÓN

ESPECIALIDAD EN ESPECIALIDAD EN MANEJO SUSTENTABLE DE
RECURSOS NATURALES DE ZONAS ÁRIDAS Y SEMIÁRIDAS,

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARÍA ANTONIO NARRO

DRA. ROSA MARÍA GARZA QUIÑONES

Saltillo, Coahuila,

Julio 2017

RESUMEN

El uso de la nanotecnología en distintos campos ha tenido un repunte en los últimos años, y en la agricultura no es la excepción, ya que existen diversos reportes del uso de nanomateriales en beneficio de los cultivos agrícolas, destacando sus efectos en la nutrición y protección de los cultivos. Ante este panorama, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo estudiar el efecto de aplicaciones foliares de nanopartículas (NPs) de zinc, cobre y hierro en las variables agronómicas y fisiológicas en plántulas. Las NPs empleadas fueron sintetizadas por un método de química verde en el Departamento de Materiales Avanzados del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), mientras que la evaluación en campo de las NPs se realizó en el invernadero del Departamento de Horticultura, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), utilizando como modelo biológico plántulas de tomate. La aplicación de las NPs en plántulas de tomate 15 días después del trasplante (DDT) constó de cinco tratamientos tal y como se describen a continuación: 1) testigo absoluto, 2) NPs de ZnO a 0.6 mg L^{-1} 3) NPs de CuO a 0.3 mg L^{-1} , 4) NPs de Fe_2O_3 a 0.6 mg L^{-1} y 5) NPs de $\text{CuO}+\text{ZnO}+\text{Fe}_2\text{O}_3$ a $0.6, 0.3$ y 0.6 mg L^{-1} . Respectivamente. A los 21 DDT se realizó el primer muestreo de variables agronómicas y fisiológicas, llevando acabo a los 30 DDT el segundo muestreo en el que además de variables mencionadas previamente se determinó la vitamina C, proteínas totales en hoja y la biomasa fresca y seca de la parte aérea y de la raíz. En esta investigación se encontró que la aplicación de las NPs generó el crecimiento e incremento del diámetro del tallo y favoreció la floración.

ABSTRACT

APLICACIÓN FOLIAR DE NANOPARTÍCULAS DE ZINC, COBRE Y HIERRO
COMO ESTIMULADORES EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE
TOMATE

POR

KARINA MORENO LEÓN

ESPECIALIDAD EN ESPECIALIDAD EN MANEJO SUSTENTABLE DE
RECURSOS NATURALES DE ZONAS ÁRIDAS Y SEMIÁRIDAS,

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARÍA ANTONIO NARRO

DRA. ROSA MARÍA GARZA QUIÑONES

Saltillo, Coahuila,

Julio 2017

ABSTRACT

The use of nanotechnology in different fields has seen a rebound in recent years, and in agriculture is no exception, as there are various reports of the use of nanomaterials to benefit agricultural crops, highlighting their effects on nutrition and protection of crops. The objective of this research is to study the effect of foliar applications of nanoparticles (NPs) of zinc, copper and iron on the agronomic and physiological variables in seedlings. The NPs used were synthesized by a green chemistry method in the Department of Advanced Materials of the Applied Chemistry Research Center (CIQA), while field evaluation of NPs was carried out in a greenhouse of the Department of Horticulture, University Autonomous Agrarian Antonio Narro (UAAAN), using tomato seedlings as biological model. The application of NPs to tomato seedlings was 15 days after transplantation (DAT) and consisted of five treatments as described below: 1) absolute control, 2) NPs of ZnO 0.6mg L^{-1} , 3) NPs of CuO 0.3 mg L^{-1} , 4) NPs of Fe₂O₃ 0.6 mg L^{-1} and 5) NPs of CuO + ZnO + Fe₂O₃ $0.6, 0.3$ and 0.6 mg L^{-1} respectively. The first sampling of agronomic and physiological variables was carried out at 21 DAT, and the second sampling was carried out at 30 DAT, taking previously mentioned variables and C vitamin, total leaf proteins and fresh and dry biomass of aerial and root were determined. In this research, we was found that the application of the NPs generated the growth and increase the stem diameter and favored the flowering.

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología (NT) es considerada una tecnología de gran importancia para un sin número de sectores (Patel *et al.*, 2014, su actividad consiste en la elaboración, caracterización y aplicación de materiales de dimensiones manométricas, con tamaños entre 1-100 nm (Ali *et al.*, 2014). Se han probado un gran número de compuestos para la elaboración de nanomateriales, como las nanopartículas (NPs) metálicas siendo las más usadas las elaboradas con oro, plata, cobre, hierro, aluminio, cobalto, titanio y zinc (Khot *et al.*, 2012).

Las NPs de óxido de zinc (NPs de ZnO) son utilizadas en diferentes áreas y la agricultura no es la excepción (Chang *et al.*, 2012). En el sector agrícola son estudiadas por su propiedad antifúngica, y por su uso potencial como nanofertilizante, promoviendo el crecimiento y desarrollo de las plántulas. También, se han empleado NPs de óxido de cobre (NPs de CuO) para el control de microorganismos patógenos en las plantas y para el tratamiento de semilla de diversas hortalizas, mejorando la emergencia altura y calidad de las plántulas (Rico *et al.*, 2015). Otras NPs utilizadas son las de óxido de hierro (NPs de Fe₂O₃) empleadas como estimuladores de crecimiento de plantas de tomate.

El uso de Nano-fertilizantes (NFs) es una oportunidad, debido a que las nano-estructuras permiten la liberación localizada de los nutrientes, dosificando lentamente los elementos que las plantas necesitan y en un estado disponible para su absorción reduciendo las pérdidas por lixiviación.

El desarrollo de esta tecnología en el estudio de las ciencias agrícolas permite su aplicación en sanidad, protección vegetal y en la nutrición de cultivos hortofrutícolas, tal es el caso del tomate que es una hortaliza de importancia mundial. En el 2012 la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura reportó una producción de 3,433,567 toneladas de tomate a nivel mundial (FAO, 2012).

En México, para el cierre del ciclo otoño-invierno y primavera-verano 2016 en la modalidad de riego y temporal se obtuvo una producción de tomata de 3,349,154.22 Ton de tomate con una derrama económica de 23,871,404.14

pesos en la producción nacional de este ciclo. Los principales estados productores son Sinaloa, Michoacán y Baja California con 924,152.51, 235,784.89, y 226,062.10 Ton respectivamente, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, ((FAO, 2012).

En el presente trabajo de investigación se llevaron a cabo aplicaciones foliares de NPs de ZnO, CuO y Fe₂O₃ en plántulas de tomate para estudiar su efecto en las variables agronómicas y fisiológicas.

OBJETIVO

Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación foliar de NPs de ZnO, CuO y Fe₂O₃ en el desarrollo de plántulas de tomate con fertilización convencional.

Objetivos específicos

1. Sintetizar y caracterizar las nanopartículas de ZnO, CuO y Fe₂O₃ con empleo de un método de química verde y alto rendimiento químico.
2. Evaluar el efecto que tiene la incorporación de nanopartículas de ZnO, CuO, Fe₂O₃ individuales y la mezcla de las mismas en variables agronómicas, fisiológicas y de biomasa en plántulas de tomate.
3. Evaluar proteínas totales y vitamina C de las plántulas de tomate tratadas con nanopartículas de ZnO, CuO, Fe₂O₃.

HIPOTESIS

El uso de nanopartículas de zinc, cobre y hierro actuarán como estimulante en el desarrollo de plántulas de tomate mejorando su calidad.

JUSTIFICACIÓN

El cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) tiene altas necesidades nutricionales. Las aplicaciones de los fertilizantes deben ser frecuentes y apropiadas; la solución nutritiva debe ser adecuada y en tiempos precisos para obtener los máximos rendimientos del cultivo. El uso de fertilizantes convencionales o químicos provoca una gran contaminación a los suelos y corrientes de agua, generando además altos costos de producción para los agricultores. En la actualidad, estas son algunas de las razones por las que se han desarrollado nuevas tecnologías como el uso de nanopartículas (NPs), debido a que el empleo de nano-materiales presenta ventajas sobresalientes, ya que de su aplicación se promueve la liberación y dosificación de nutrientes en un estado que favorece la absorción, reduciendo las cantidades nutricionales requeridas con respecto a los fertilizantes convencionales.

Debido al tamaño que presentan las NPs, es posible que ésta ingresen por las vías de absorción de las plantas (vía foliar, apoplasto y simplasto), favoreciendo la eficiencia al poseer un tamaño similar al de los poros de las hojas y las raíces de las plantas.

El uso de NPs es una alternativa viable, novedosa y podría representar de cierta manera hasta atractiva económicamente, teniendo en cuenta que se requieren cantidades muy pequeñas para cubrir las necesidades nutricionales de las plantas sin que se vea afectada la calidad de la plántula. Aunado a lo anterior, las estructuras y funciones de la plántula de tomate se ven mejoradas ampliamente con el uso de NPs, debido a que las rutas de absorción no solo aprovechan las NPs sino que también optimizan su actividad metabólica, mejorando procesos en la estructura de la planta que le aportan vigor y calidad.

Ante este panorama se espera que la aplicación de NPs de ZnO, CuO y Fe₂O₃ promueva el desarrollo de las variables agronómicas y fisiológicas de plántulas de tomate.

REVISIÓN DE LITERATURA

El cultivo de tomate

El tomate posee sus orígenes en la región andina de América del Sur, concretamente en Perú, Ecuador, Bolivia y Chile. Sin embargo, este cultivo fue domesticado en México. El nombre de jitomate procede del náhuatl xictli; ombligo y tomatl; tomate, que significa tomate de ombligo (SAGARPA, 2010).

El comienzo de la especie *lycopersicum* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile. Probablemente desde allí fue llevado a Centroamérica y México, donde luego se domesticó y ha sido por siglos básico en la dieta humana, posteriormente llevado por los conquistadores a Europa. Durante el siglo XVI se consumían en México tomates de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos, ya para entonces habían sido llevados a España y después a Italia, países en donde también servirían como alimento (Escalona *et al.*, 2009).

Importancia del cultivo de tomate

China es el país que tiene la mayor cantidad de hectáreas sembradas con 1,005 millones de ha, su rendimiento es de 50.12 millones de toneladas, el segundo lugar lo ocupa India; México se encuentra en el décimo lugar con 96,651 ha dedicadas al cultivo del tomate (FAO, 2012).

El cultivo de tomate es de gran importancia en México. La producción para el cierre del 2014 fue de 2,838.4 millones de toneladas de acuerdo al SIAP, siendo el estado de Sinaloa el principal productor con un 23.4 % un poco más del doble de la producción de Baja California la cual es de 11.2 %, seguidos por los estados de Jalisco, Baja California Sur, Zacatecas y Michoacán con 8.8, 5.5, 5.1 y 4.0% respectivamente, el resto del país aporta el 4.21% de la producción, el precio promedio para esta hortaliza es de 13.4 pesos por kg. Los Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA, 2014).

En México el cultivo del tomate es de suma importancia, ya que es uno de los principales cultivos que se producen en condiciones protegidas este ocupa el 70%, seguido por el pimiento (16%) y pepino (10%) (SAGARPA, 2012). Aunado a esto, México es el principal exportador a nivel internacional, exportando el producto a Estados Unidos de América, Canadá y El Salvador. Tan sólo en 2011 se produjeron 1,872,000 toneladas (Juárez-Maldonado *et al.*, 2015).

Nutrición convencional del cultivo de tomate

Los nutrientes juegan un papel importante en la nutrición rendimiento y calidad de las plantas de tomate (Dadomo *et al.*, 1994; Dumas *et al.*, 1994 y Rodríguez *et al.*, 1994).

Las extracciones de macronutrientes que realiza la planta de tomate están relacionadas con las condiciones de desarrollo del cultivo (suelo, clima y técnicas de cultivo), con el destino de la producción, la variedad sembrada y el rendimiento agrícola. La necesidad de fertilizantes del cultivo va a depender de la disponibilidad de nutrientes del suelo de acuerdo al pH, el contenido de materia orgánica, la humedad, la variedad, la producción y la calidad esperada del cultivo. Por eso las aplicaciones de fertilizantes estarán sujetas al resultado del análisis químico del suelo, el análisis foliar, las observaciones de campo y las recomendaciones del asistente técnico.

Una fertilización eficiente es aquella que, con base en los requerimientos nutricionales de la planta y el estado nutricional del suelo, proporciona los nutrientes en las cantidades suficientes y en épocas precisas para el cultivo. Una buena fertilización no solamente implica aplicar el elemento faltante, sino también mantener un balance adecuado entre los elementos, tanto en el suelo como en las diferentes estructuras de la planta.

Se debe tener en cuenta que el tomate es una planta exigente en nutrientes; requiere una alta disponibilidad de macronutrientes como N, P, K, Ca, Mg, S, y micronutrientes como Fe, Mn, Cu, B, Zn. Aunque la exigencia de N es alta, un exceso de este elemento puede llegar a un exagerado desarrollo vegetativo con

bajo porcentaje de formación de frutos. Desde el momento del trasplante hasta la floración, la relación de fertilización de N y K debe ser 1:1; cuando comienza el llenado de fruto, se requiere una cantidad mayor de K, ya que este elemento contribuye con la maduración y el llenado de frutos; la relación de estos nutrientes debe ser 1:2 o 1:3 (Jaramillo *et al.*, 2007).

Nanotecnología

La nanotecnología es una disciplina de la investigación multidisciplinaria que abre una importante gama de oportunidad en diversos campos como la medicina, la industria farmacéutica, la electrónica y la agricultura. Los beneficios de la Nanotecnología son enormes para mejorar diversas ramas de la industria (Prasad *et al.*, 2014).

Sabourin y Ayande (2015), mencionan que la nanotecnología puede impactar en todos los sectores de la industria de los agronegocios en los próximos años. Así mismo, la Nanotecnología podría utilizarse para mejorar el desarrollo de los recursos agroindustriales convencionales con potencial en el sector agrícola y otras múltiples áreas.

En materia de medio ambiente, se ha encontrado que en los últimos años, el uso de la Nanotecnología ha aumentado ampliamente, puesto que varios materiales nanoestructurados o con dimensiones nanométricas se han utilizado como transporte en la liberación controlada de productos químicos debido a su amplia degradación y baja toxicidad (Aouada y De Moura, 2015).

Los usos actuales de esta tecnología en el sector alimentario y agrícola son escasos, aun así la aplicación de la Nanotecnología en la agricultura e industria alimentaria tienen un amplio potencial que van desde mejorar la calidad, inocuidad en los alimentos y la disminución de insumos agrícolas (Prasad *et al.*, 2014).

Nanotecnología en la agricultura

La aplicación de la nanotecnología en la agricultura comenzó con la idea de que las tecnologías agrícolas convencionales no podían ser capaces de lograr una productividad más elevada ni restaurar los ecosistemas dañados por las técnicas existentes, debido a que los efectos a largo plazo de la agricultura con semillas mejoradas genéticamente, en conjunto con el riego, fertilizantes y pesticidas se han cuestionado (Muckhopadhyay, 2014), la agricultura suele ser un sector donde nuevas tecnologías se aplican para mejorar el rendimiento de los cultivos.

La aplicación de la nanotecnología y el desarrollo de nuevos nanodispositivos y nanomateriales tiene un amplio potencial en la agricultura y en la biotecnología (Srilatha, 2011), por lo tanto la nanoagricultura como su nombre lo dice, se refiere a la aplicación de partículas con tamaño nano en la agricultura, puesto que estas partículas ofrecen grandes beneficios para los cultivos. Además, con la intervención de la Nanotecnología en la agricultura, se tiene grandes expectativas por ejemplo para mejorar la eficiencia del uso de los nutrientes a través de nanoformulaciones de fertilizantes, el manejo y control de plagas, el desarrollo de pesticidas e insecticidas comerciales de nueva generación disminuyendo así la cantidad de producto a aplicar al suelo o al follaje, en dosis significativamente menores que las que se utilizan de manera convencional, de esta manera se busca proteger el agroecosistema (Xue *et al.*, 2014).

Nanofertilizantes

Un nanofertilizante (NFs) es un producto que libera nutrientes a los cultivos en alguna de las siguientes formas: 1) se encapsulan dentro de nano tubos o materiales nanoporosos, 2) cubierto por una nanopelícula polimérica y 3) como partículas o emulsiones de escala manométrica (INTAGRI, 2016).

A nivel mundial están comenzando a funcionar estas estrategias nanotecnológicas, un ejemplo es que se han usado compuestos de dobles cepa de hidrogeno de zinc-aluminio para la liberación controlada de compuestos

químicos que regulan el crecimiento vegetal como se muestra en la figura 1, se han mejorado los rendimientos mediante el uso de fertilizantes incorporados en nanotubos (INTAGRI, 2016).

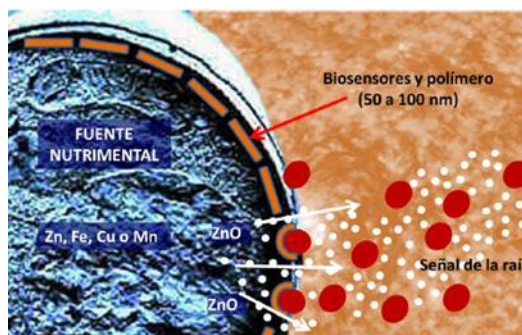


Figura 1. Modelo conceptual de liberación de NPs de ZnO de acuerdo a la demanda del cultivo. (Adaptada de Monreal, 2015).

Absorción, translocación y efecto de los nanopartículas en las plántulas.

Las nanopartículas (NPs) son materiales muy pequeños que se ubican dentro del tamaño nanométrico menor a los 100 nm. (Srilatha, 2011), su uso y aplicación muestra menos daños colaterales al medio ambiente y a la salud humana (Pereira *et al.*, 2014). Cuando las NPs son aplicadas al suelo o agua de riego, penetran a través de la epidermis de la raíz y llegan a la corteza vía simplasto y/o apoplasto, posteriormente atraviesan la endodermis y finalmente entran al tejido conductor del xilema para ser translocadas basipétalmente hasta la parte aérea de las plántulas (Peng *et al.*, 2015).

El tamaño nanométrico de las NPs les da mayor facilidad de penetración a través de las membranas biológicas, en comparación con los materiales a escala micrométrica; las nanopartículas tienen mayor facilidad de penetrar la membrana y pared celular causando cambios morfofisiológicos (Eichert *et al.*, 2008; Sabir *et al.*, 2014).

Algunos autores mencionan que el efecto promotor o inhibitorio en el crecimiento de las plántulas con las NPs está relacionado con la concentración, tamaño y las propiedades inherentes del elemento involucrado, así como la función

fisiológica y bioquímica que desempeña la plántula, esto es, si actúa como micronutriente tratándose de Cu, Zn, Fe entre otras (Wang et al., 2015).

Óxido de Zinc

Las NPs de óxido de zinc (NPs ZnO) se han usado en distintas disciplinas como la industria cosmética, textil, médica, eléctrica y la agricultura (Chang et al., 2012). En el sector agrícola son estudiadas por su actividad antimicrobial (Fang et al., 2013; Sabir et al., 2014) y por su potencial como nanofertilizantes, corrigiendo las deficiencias de Zn en las plantas y promoviendo su crecimiento y desarrollo (Naderi y Shahraki, 2013; Raskar y Lawer, 2014; Dimkpa et al., 2015).

Algunos estudios señalan que concentraciones elevadas (1000 mg L^{-1}) causan fitotoxicidad e inhibición en la germinación (Kyung-Seok y Kong, 2014; Zhang et al., 2015); mientras que dosis bajas ($>50 \text{ mg L}^{-1}$) han confirmado efectos significativos en el crecimiento y desarrollo (Prasad et al., 2012), reflejándose en una mayor biomasa seca y área foliar. Este efecto promotor ha sido atribuido al Zn, por ser un elemento esencial para la división celular y por su importancia como componente de varias enzimas (Pandey et al., 2010); aunque también está implicado en la síntesis de proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos (Tarafdar et al., 2014).

Algunos estudios realizados en diversas especies de plantas demuestran que las NPs de ZnO promueven la germinación y crecimiento de plántulas (Siddiqui et al., 2014). Panwar et al. (2012), señalan un mayor crecimiento e incremento en la producción de biomasa seca en plántulas de tomate cuando se aplicaron al follaje 20 mg L^{-1} , además se encontró alta concentración de Zn en las hojas, confirmando con ello que la penetración se lleva por la vía de los estomas y su translocación basipétala vía floema.

La aplicación foliar de 1.5 y 10 mg L^{-1} de NPs de ZnO durante 15 días en plantas de garbanzo (*Cicer arietinum*), promovió mayor altura y biomasa seca. Cabe señalar que la aplicación de Zn en forma de nanofertilizantes aplicado al

follaje en bajas dosis, es más eficiente para promover el crecimiento de las plantas. Se menciona que esto es debido a que el Zn es necesario para la producción de biomasa además este elemento tiene una función muy importante como cofactor de enzimas involucradas en el proceso fotosintético (Burman *et al.*, 2014).

El Zn como nanofertilizante en dosis de 10 mg L^{-1} promovió mayor crecimiento en plantas de mijo (*Pennisetum americanum*), obteniendo mayor cantidad de biomasa seca, longitud de raíz y contenido de clorofila (Tarafdar *et al.*, 2014).

Cobre

El cobre (Cu) es uno de los elementos metálicos de transición, que se producen de forma nativa en la corteza terrestre (Alder, 1981). Las nanopartículas de Cu se han aplicado en diversas industrias como la agricultura, la ganadería, los electrodomésticos y la medicina debido a sus propiedades antimicrobianas (Borkow y Gabbay, 2009).

Las NPs de cobre (NPsCu) han llamado mucho la atención en los últimos años por ser un metal semiconductor, por las propiedades físicas, químicas, antimicrobianas, así como por su abundancia (Betancourt *et al.*, 2013). Además, el cobre posee un importante papel biológico en el proceso fotosintético de las plantas (Baba, 2006).

Hierro

El hierro (Fe) es un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Su papel fundamental es en la formación de la clorofila y su ausencia o deficiencia puede causar un desorden conocido como clorosis. Las NPs de Fe se han comenzado a investigar como Nanofertilizantes con un enfoque prometedor (Siva y Benita, 2016).

Proteínas totales

La purificación y extracción de proteínas se remonta a los años 200; los primeros reportes que existen de aislar sustancias a partir de plantas con propiedades similares a la albúmina del huevo se llevaron a cabo por Foucroy en 1789; durante el siglo XIX se purificaron gran cantidad de proteínas (Andreu, 1997).

Las proteínas son moléculas orgánicas estas son las más abundantes en la célula, forman parte de más del 50% del peso seco de la célula. Cada tipo celular, tiene un rol específico determinado por su composición proteica. Con la posibilidad de que 20 (o 22) aminoácidos diferentes puedan estar unidos en cualquier orden para conformar polipéptidos de cientos de aminoácidos, tienen el extraordinario potencial de producir una gran cantidad de variantes en su conformación. Esta variedad genera funciones tan refinadas como las de las enzimas que están involucradas en el metabolismo celular. La composición proteica de las células en un determinado momento depende del conjunto de genes que se estén activando y esto está relacionado directamente con las señales que recibe la célula, de su micro ambiente y de las características celulares que le son propias (UNQ, 2017).

Vitamina C o ácido ascórbico

El ácido ascórbico se encuentra en abundancia en los tejidos vegetales, interviene como reductor de numerosos radicales libres, reduce los daños causados por el estrés oxidativo; además, puede eliminar directamente radicales libres de oxígeno con o sin catálisis enzimática y también puede hacerlo reciclando tocoferol a su forma reducida. El ascorbato protege a las macromoléculas del daño oxidativo, y está presente en cloroplastos, citosol, vacuolas y en componentes extracelulares. También se produce en la pared celular donde es la primera línea de defensa contra el ozono y la radiación ultravioleta (Smirnoff *et al.*, 2000).

Su concentración intracelular puede crecer hasta el nivel milimolar. El ácido ascórbico puede eliminar directamente superóxido, radicales hidroxilos y oxígeno singlete (O_2) y reduce H_2O_2 hasta agua por la vía ascorbato peroxidasa. Esto muestra que al existir un menor contenido de vitamina C en las plantas, ocurre una menor remoción de radicales libres (Smirnoff *et al.*, 2000).

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del experimento

El presente trabajo se llevó a cabo en tres etapas: 1) Síntesis de NPs, la cual se realizó en el Departamento de Materiales Avanzados del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), 2) Evaluación de NPs en campo, que se llevó a cabo en el invernadero del Departamento de Horticultura y 3) Determinaciones en laboratorio, la cual se desarrolló en el Laboratorio de Fisiología del Departamento de Horticultura, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Saltillo, Coahuila, México. La ubicación geográfica de las instituciones en mención se presenta en la Figura 2

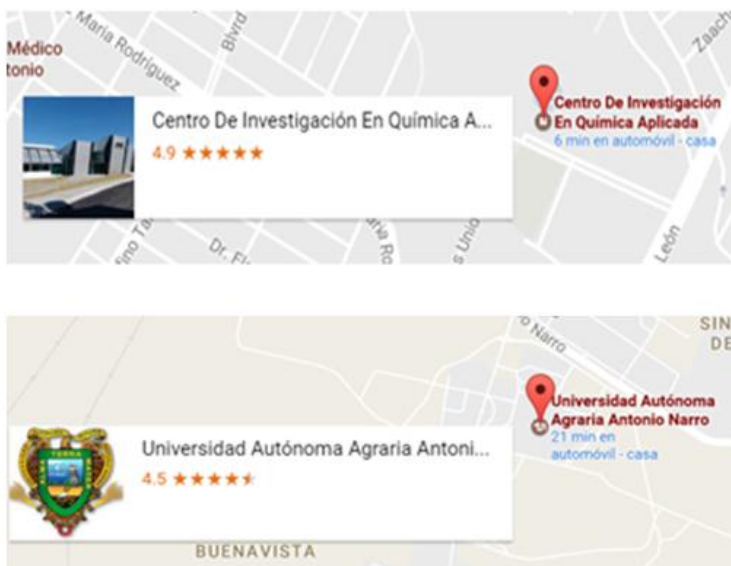


Figura 2 Ubicación geográfica de las instituciones en donde se desarrolló el experimento.

Síntesis de nanopartículas

La síntesis de NPs se llevó a cabo en tres etapas, las cuales se describen a continuación:

1. Molienda mecánica de materiales

Los reactivos utilizados se colocaron en un mortero de óxido de circonio (ZrO_2) con bolas del mismo material en una relación 10:1 (peso de bolas: peso reactivos). El mortero se colocó en un molino FRITSCH pulverisette tipo planetario que emplea movimientos de rotación y traslación. Se realizaron 3 segmentos de molienda de 30 min a una velocidad de 350 rpm cada uno; entre cada segmento el material fue despegado del mortero para homogenizar la mezcla. Al término de las moliendas el mortero se colocó en una estufa a 100 °C por una hora para facilitar el retiro del material en su totalidad. Posteriormente, el material retirado del mortero de molienda se colocó en una caja de teflón para someterlo a un tratamiento de secado a 80°C. Enseguida, se puso en una parrilla a 100 °C para evitar su hidratación mientras se efectuaba la molienda manual en un mortero de vidrio precalentado. El material molido fue colocado en un vial, con peso conocido que permitió determinar la cantidad obtenida.

2. Tratamiento térmico del precursor.

Para el tratamiento térmico de los precursores obtenidos en molienda, se realizó el pesado y la colocación en crisoles previamente identificados, colocándolos posteriormente en una mufla a 400 °C durante 2 h, empleando velocidades de calentamiento y enfriamiento de 5 y 10 °C/min respectivamente.

3. Lavado y caracterización de las NPs.

Seguido a lo anterior, se procedió a realizar operaciones de lavado aprovechando la alta solubilidad del $LiNO_3$ y $NaNO_3$ en agua desionizada, operación en la cual se lleva a cabo disolución de los nitratos en cuestión y la recuperación de las NPs preparadas. Los lavados se realizaron usando un vaso de precipitado y una parrilla de agitación, en donde por cada gramo de material precursor se colocaron 20 ml de agua desionizada. La operación se realizó durante 1 h, seguido a lo cual se permitió la sedimentación de las NPs y la remoción del agua de lavado, repitiendo la operación por cuatro ocasiones. Se efectuó un quinto lavado con etanol en una relación de 20 ml por cada gramo de material precursor, empleando 80 °C como temperatura de evaporación del

solvente y por el tiempo necesario hasta conseguir su evaporación parcial. Las NPs obtenidas se colocaron en una caja de teflón y se continuó con la evaporación total del solvente. Finalmente, las NPs fueron sujetas a un tratamiento de secado en una estufa a 100 °C por 1 h, homogenizado homogenizadas manualmente en un crisol de vidrio y colocadas en un vial para su almacenaje.

Las NPs sintetizadas fueron analizadas por la técnica de difracción de rayos X (DRX) para conocer la constitución de las fases cristalinas presentes.

En el cuadro 1 se muestran los materiales, reactivos y equipos utilizados en la síntesis de las NPs de la etapa 1.

Cuadro. 1 Materiales, reactivos y equipos utilizados para la preparación de los nanopartículas.

Materiales	Reactivos	Equipos
Vasos de precipitado	Agua desionizada	Molino planetario
Mortero de ágata	C ₂ H ₆ O	Mufla
Mortero ZrO ₂	LiOH	
Pipetas pasteur	NaOH	
Parrilla de agitación	Zn (NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	
Cajas de teflón	Hg(NO ₃) ₂ * H ₂ O	
Agitadores	KOH	
Sanitas	KNO ₃	
Crisoles		
Espátulas		

Experimento en campo

Cuadro. 2 El cuadro 2 muestra los materiales que se utilizaron para la etapa 2 del trabajo experimental en campo.

Materiales
Semillas de tomate
Sustrato
Vasos de poli-estileno
Fertilizantes (solución Steiner)
Tambo de 200 L para agua
Vaso de 1L para aplicar riego
Cintra métrica
Vernier
Medidor de Clorofila SPAD Minolta 502
Porómetro modelo SC-1

El día 7 de marzo del 2017 se realizó la siembra, de tomate de la variedad Rio Grande de crecimiento determinado. Se colocaron las semillas en charolas de poli-estireno con 200 cavidades, previamente fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 10 %, la charola fue llenada con sustrato perlita:peat moss en proporción 1:1 (v:v) los cuales fueron mezclados previamente y humedecidos. Se colocó la semilla a 1 cm de profundidad posteriormente se colocó una fina capa de sustrato y recubierta con una bolsa negra para favorecer la germinación. Las primeras plántulas aparecieron a los siete días de la siembra con un porcentaje de germinación de 70 %. Las plántulas fueron regadas 2 veces al día hasta su trasplante.

El trasplante se realizó el día 6 de abril del 2017 en vasos de poli-estileno con capacidad de 1L, con sustrato perlita: peat moss en proporción 1:1 (v:v). Posteriormente se acomodaron los vasos por tratamientos previamente

identificados. El riego se realizó de forma manual con solución nutritiva Steiner al 25%.

La aplicación de NPs se realizó a los 15 después del trasplante (20 de abril), mediante aplicaciones foliares. La nomenclatura empleada para los tratamientos fue la siguiente: T0=Sin aplicación, T1= ZnO (0.06 mg L⁻¹), T2=, CuO (0.06 mg L⁻¹), T3= Fe₂O₃ (0.06 mg L⁻¹) y T4= ZnO+Cu+Fe₂O₃ (0.06, 0.06 y 0.06 mg L⁻¹).

Tres semanas después del trasplante se evaluaron las variables agronómicas (número de hojas, altura, tamaño de raíz, diámetro de tallo, peso fresco y seco de tallo y raíz) y fisiológicas (conductancia y unidades SPAD). Un mes después del trasplante se realizó una segunda evaluación de las variables agronómicas y fisiológicas. El día 18 de mayo del 2017 se evaluó vitamina C y proteínas totales.

Cuantificación de Proteínas Totales

El cuadro 3 muestra los materiales, reactivos y equipos que se utilizaron en la tercera y última etapa del trabajo experimental en el laboratorio.

Cuadro.3 Materiales reactivos y equipos utilizados en el análisis bioquímico de las muestras.

Materiales	Reactivos	Equipos
Morteros	Reactivo Bradford	Espectrofotómetro
Micropipetas	H ₂ O ₂	Centrifuga
Tubos Ependor	H ₂ S ₄ O ₁₃	Congelador
Vasos de precipitado	KMnO ₄	Estufa de secado
Papel filtro	Nitrógeno líquido	Lector de placas
Placas	Ácido clorhídrico al 2%	
	C ₁₂ H ₇ NCl ₂ O ₂	

Para la cuantificación de proteínas totales se determinó por la técnica colorimétrica de Bradford (1976), a partir de la ecuación de una curva de calibración de albúmina de suero bovino (BSA).

Reactivo Bradford (1976):

Se pesaron 100 mg de azul brillante de Comasi G250 (C₄₇H₅₀N₃NaO₇S₂) que fueron disueltos en 50 mL de Etanol (98%), posteriormente se agregaron 100 mL de H₃PO₄ (diluido al 85%) (Reacción exotérmica, reposar), se aforaron a 1L con agua destilada para ser filtrado dos veces con papel filtro N° 11, en seguida se almacenó en un frasco ámbar a 4°C hasta su uso.

Curva de calibración de BSA:

Se preparó solución ABS madre (1000 ppm). Considérese que 1000 ppm = 1 mg/1 mL. Y se prepararon patrones de 100, 300, 500, 700 y 1000 mg L⁻¹ a partir de la solución madre se tomaron 5 µL de la muestra patrón y se colocarlo en pocillo de microplaca, se añadieron 250 µL de reactivo Bradford y se mezcló ligeramente en seguida se incubaron durante 10 min a temperatura ambiente y fueron analizados en un lector de placa ELISA a 630 nm. Se graficaron las absorbancias contra la concentraciones para obtener la ecuación de la recta

Cuantificación de proteínas totales:

Se tomaron 5 µL de extracto enzimático y colocarlo en pocillo de microplaca añadiendo 250 µL de reactivo Bradford, se mezcló ligeramente y se incubo durante 10 minutos a temperatura ambiente, posteriormente fueron leídos en lector de placa ELISA a 630 nm para interpolaran los resultados de las absorbancias en la ecuación $x = (y-b)/a$. Donde $y =$ absorbancia. Los resultados se expresan en mg g⁻¹.

Determinación de vitamina C en hojas

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

Consideraciones

Tomando en cuenta que el ácido ascórbico (vitamina C) junto con el glutati3n son los m3s importantes y principales antioxidantes de las plantas y frutos, es necesario considerar que al momento de realizar el muestreo del material vegetal, 3ste se a colocado en un recipiente con hielos y almacenado en refrigeraci3n para detener y/o minimizar el proceso de respiraci3n del fruto y evitar el consumo de estos antioxidantes. Si la determinaci3n no se realizar3 de manera inmediata ser3a recomendable liofilizar el tejido. La medida anterior nos permitir3 determinar un estado m3s cercano del contenido de estos antioxidantes

Metodolog3a

Se pes3 1 g de en hoja y se macero en un mortero con 10 mL de 3cido clorh3drico (HCl) al 2% (v/v).homogenizando se filtr3 a trav3s de una gasa absorbente est3ril sobre un matraz de aforaci3n y se aforo a 100 mL con agua destilada tomando una al3cuota de 10 mL del filtrado para ser titulado con 2-6 diclorofenolindofenol hasta obtener una coloraci3n ros3cea persistente.

Cuantificaci3n

La cuantificaci3n del contenido de vitamina C se realiz3 con la siguiente ecuaci3n:

$$\text{Vit. C} = \frac{(\text{mL utilizado de 2-6 diclorofenolindofenol} * 0.088 * \text{volumen total} * 100)}{(\text{Volumen al3cuota} * \text{peso de muestra})}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó en este trabajo fue el de completamente al azar. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias según la prueba LSD de Fisher ($p < 0.05$) con el programa InfoStat versión 2016. Los tratamientos evaluados consistieron en un control y la aplicación de NPs de ZnO, CuO y Fe₂O₃ separadas y su combinación, ZnO+CuO+Fe₂O₃.

En el cuadro 4 se observan los tratamientos, concentraciones y repeticiones que fueron evaluadas en el trabajo experimental en campo.

Cuadro 4. Tratamientos, concentración de NPs, aplicaciones y repeticiones evaluadas en el experimento.

Tratamientos	Concentración de NPs	Aplicaciones	Repeticiones
T0=Sin/NPs	0, mg L ⁻¹		
T1=NPs. de ZnO	0.6, mg L ⁻¹	1	15
T2=NPs. de CuO	0.3 mg L ⁻¹	1	15
T3=NPs de Fe ₂ O ₃	0.6 mg L ⁻¹	1	15
T4=NPs de ZnO+ CuOFe ₂ O ₃	0.6, 0.3, 0.6 mg L ⁻¹	1	15

Con relación en la preparación de las NPs, en la Figura 3 se presenta el difractograma de rayos X obtenido para la preparación de ZnO. Para facilitar la identificación de las especies cristalinas, se incluyen en la parte inferior de la figura el difractograma reportado en el banco de datos del ICDD (*International Centre for Diffraction Data*). En el difractograma están contenidas las reflexiones características de la fase ZnO con estructura de tipo Wurtzita y simetría hexagonal (PDF 75-0576). El tamaño de cristalita determinado a través del método Halder-Wagner implementado en el software PDXL2 (PDXL2,

Advanced integrated X-ray powder diffraction suite, version 2.4.2.0, Rigaku Corporation) fue de 45 nm.

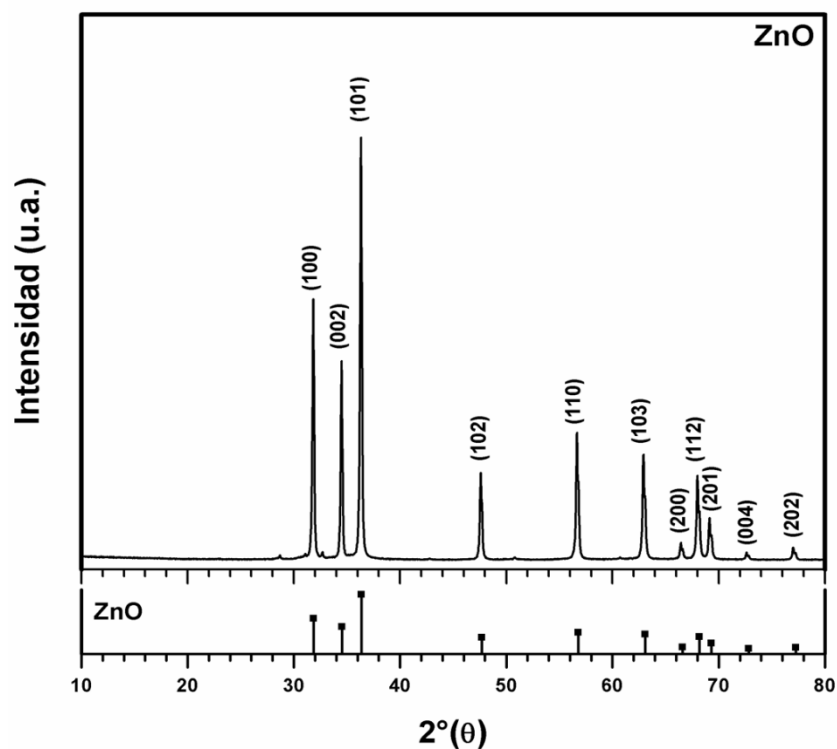


Figura 3. Difractograma de rayos X de las NPs de ZnO preparadas.

En la Figura 4 se presenta el difractograma de rayos X de las NPs de CuO. Las reflexiones que integran el difractograma corresponden a la fase cristalina del CuO (PDF 72-0629). El tamaño de cristalita calculado fue de 30 nm.

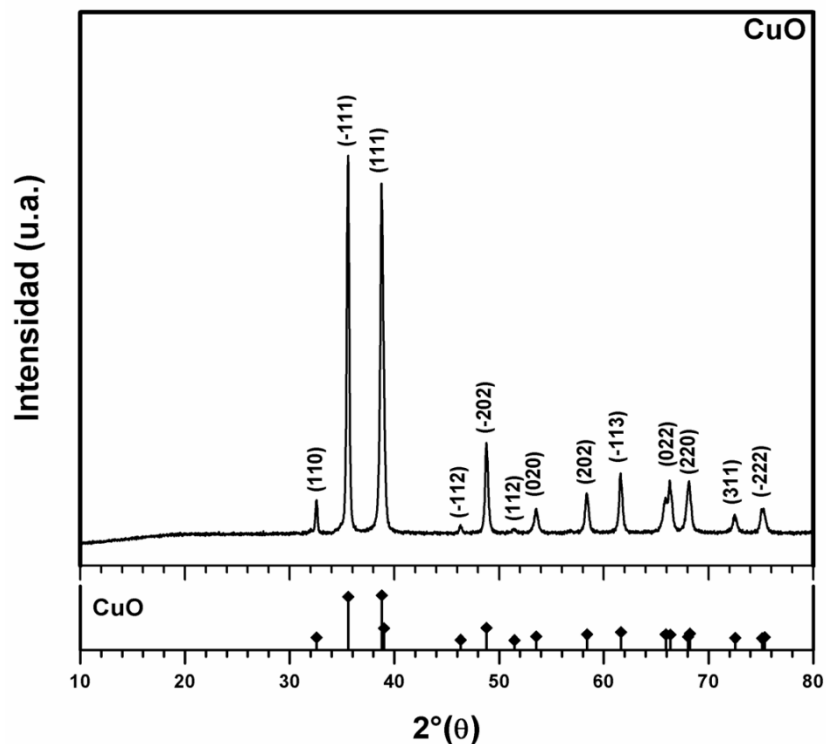


Figura 4. Difractograma de rayos X de las NPs de CuO.

En la Figura 5 se presenta el difractograma de rayos X de las NPs de Fe_2O_3 . Las reflexiones cristalinas presentes corresponden a la fase Fe_2O_3 (PDF 86-2368). Ahí mismo, se aprecia un pico señalado con el símbolo asterisco (*) y relacionado con la existencia de la fase adicional Fe_3O_4 (PDF 89-0950). La proporción de fases determinada para dichas NPs bifásicas resultó de 68 y 32 % para Fe_2O_3 y Fe_3O_4 respectivamente. El tamaño de cristalita calculado para la fase mayoritaria fue de 16 nm.

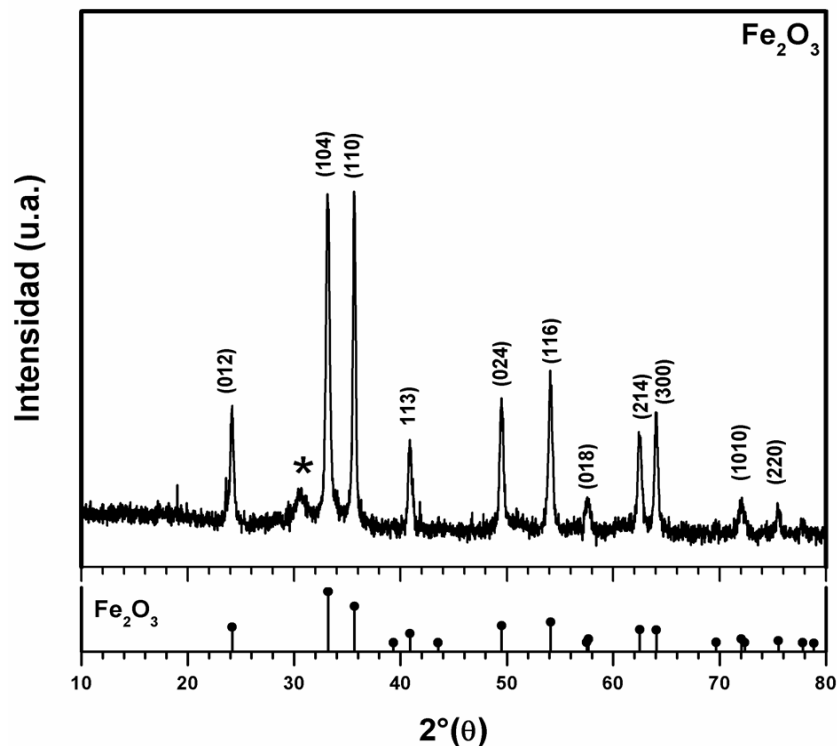


Figura 5. Difractograma de rayos X de las NPs de Fe₂O₃ y Fe₃O₄.

Las variables agronómicas evaluadas a las 3 semanas de la aplicación de las NPs se muestran en el Cuadro 5. De acuerdo con los datos obtenidos puede comentarse que para la variable de altura el tratamiento de NPs de Fe₂O₃, T3, T3, fue el que mostró un mayor crecimiento en comparación con los otros tratamientos. En cuanto a la variable número de hojas, no existió diferencia estadística entre tratamientos, mientras que para los tratamientos de diámetro de tallo el T0 y T1 fueron los que presentaron un diámetro mayor.

Panwar *et al.*, 2012 encontraron que la aplicación de NPs favorece el crecimiento de las plántulas de tomate a dosis de 50 mg L⁻¹ de Fe₂O₃, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el presente trabajo pues a dosis de 0.6 mg L⁻¹ se encontró un mayor crecimiento en las plántulas evaluadas.

Cuadro 5: Variables agronómicas registradas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$).

Tratamientos	Altura Cm	# Hojas	Diámetro de tallo Mm
Sin NPs	13.46 ab	6.80 a	0.58 a
NPs de ZnO	13.17 ab	7.07 a	0.56 a
NPs. de CuO	12.93 b	7.07 a	0.47 c
NPs de Fe ₂ O ₃	14.00 a	7.20 a	0.50 bc
NPs ZnO+CuO+Fe ₂ O ₃	13.23 ab	7.20 a	0.55 ab
Coeficiente de variación.	10.37	9.43	14.62

Los resultados obtenidos para el índice indirecto de clorofila (Unidades Spad) se muestran en la Figura 6. Se puede observar que no existe diferencia significativa entre el tratamiento T0, aun cuando es importante señalar que existe diferencia estadística entre el tratamiento de NPs de ZnO y de CuO, T1 y T2. Estos resultados pueden deberse a que las unidades Spad al medir indirectamente la cantidad de clorofila, indica el contenido de nitrógeno que se encuentra en la planta, y al no haberse aplicado una cantidad superior de este elemento en los tratamientos no se presenta incremento que muestre variabilidad en la evaluación de esta variable.

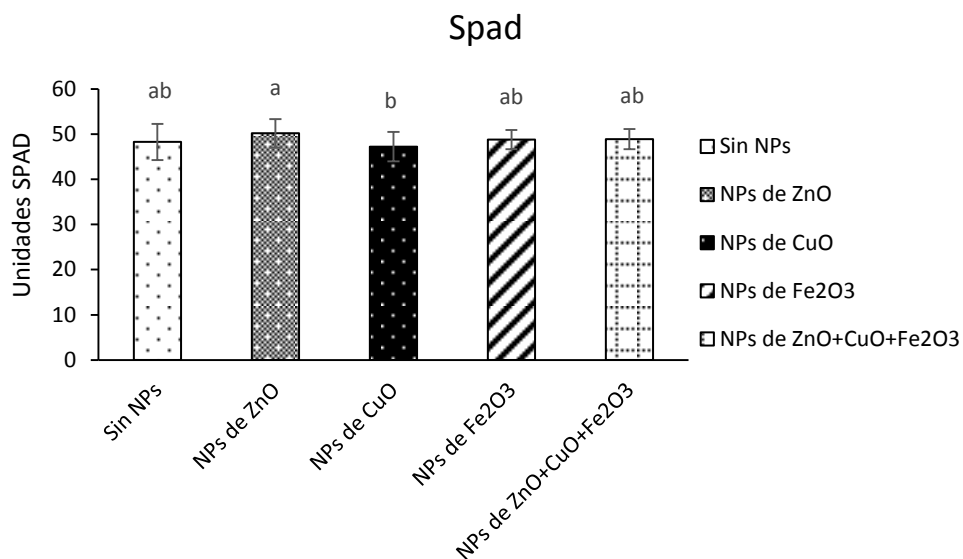


Figura 6: Unidades SPAD evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$).

Escalona *et al.*, (2009) mencionó que las unidades Spad están directamente relacionadas con el contenido de nitrógeno en las plantas por lo cual en este estudio no se muestra diferencia para los tratamientos evaluados.

En la Figura 7 se muestran los resultados obtenidos para la conductancia estomática. Se puede observar que no existe diferencia significativa entre el tratamiento T0 el resto de los tratamientos, aun cuando es importante señalar que los tratamientos T1 y T2 presentan una diferencia entre sí. Esto puede deberse a la etapa fenológica de las plántulas, pues a menor área foliar menor será la transpiración. Con base a esto se puede mencionar que el tratamiento T2 es el que muestra una mayor conductancia estomática, ya que es el tratamiento con mayor altura y número de hojas.

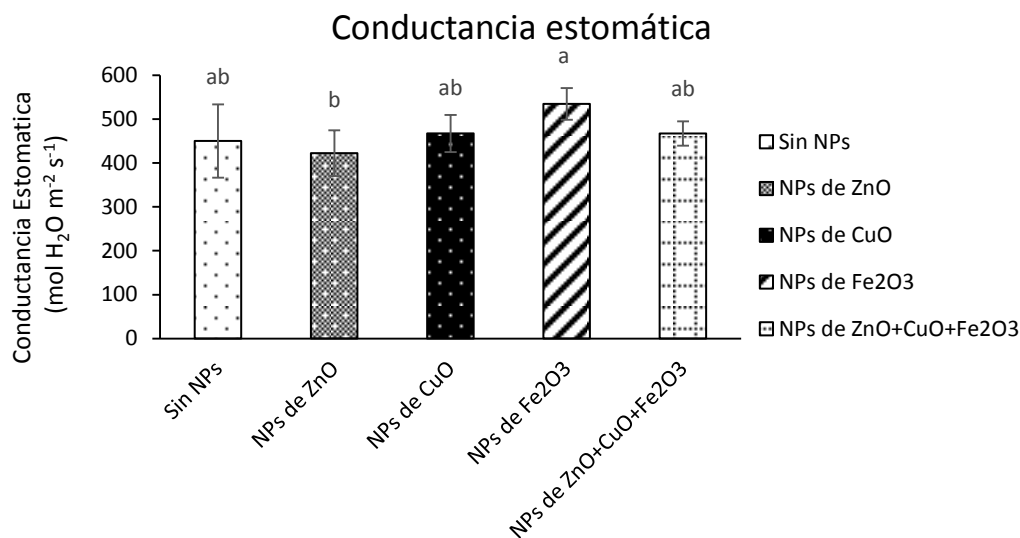


Figura 7: Conductancia estomática evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$).

Lo anterior concuerda con lo reportado Dell'Amico *et al.*, (2009), donde menciona que a mayor área foliar mayor será la conductancia estomática.

En el Cuadro 6, se muestran las variables agronómicas evaluadas en el segundo muestreo, (11 de mayo del 2017). Para la variable de altura se muestra diferencia significativa entre el tratamiento T0 y el resto de los tratamientos, presentando un mayor crecimiento los que fueron tratados con las NPs. En cuanto al número de hojas, no existe diferencia significativa, sin embargo, se presenta diferencia numérica entre los tratamientos, mostrando una mayor cantidad en los tratamientos evaluados con las NPs. En la variable diámetro de tallo se presenta diferencia estadística entre el tratamiento T0 y T2, mientras que el resto de los tratamientos no muestran diferencia con respecto a T0. Para este segundo muestreo se tomó la variable de número de flores donde se presenta diferencia estadística principalmente entre el tratamiento T0 y T3. T3 presentó mayor número de flores, esto puede atribuirse a la aplicación de NPs de Fe₂O₃, y su actuación como inductores en la floración.

Cuadro 6: Variables agronómicas registradas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$), para el día 11 de mayo de 2017.

Tratamiento	Altura Cm	# Hojas	Diámetro de tallo Mm	# Flores
Sin NPs	24.47 b	7.67 b	7.68 b	1.13 c
NPs de ZnO	26.60 a	8.07 ab	7.93 ab	1.93 ab
NPs. de CuO	26.73 a	8.47 a	7.44 b	1.53 bc
NPs de Fe ₂ O ₃	27.33 a	8.27 a	8.62 a	2.13 ab
NPs ZnO+CuO+Fe ₂ O ₃	26.73 a	8.20 ab	7.53 b	2.40 a
Coeficiente de variación.	9.23	9.67	15.15	54.64

Para la segunda evaluación de unidades Spad realizada a las 4 semanas de la aplicación de las NPs, se observó la misma tendencia que en el muestreo anterior, esto se puede apreciar en la Figura 8, donde los tratamientos T1 y T3 muestran diferencia en comparación del tratamiento T2, aunque no con el resto de los tratamientos. Con estos resultados se puede interpretar que las NPs no interfieren en el índice de clorofila.

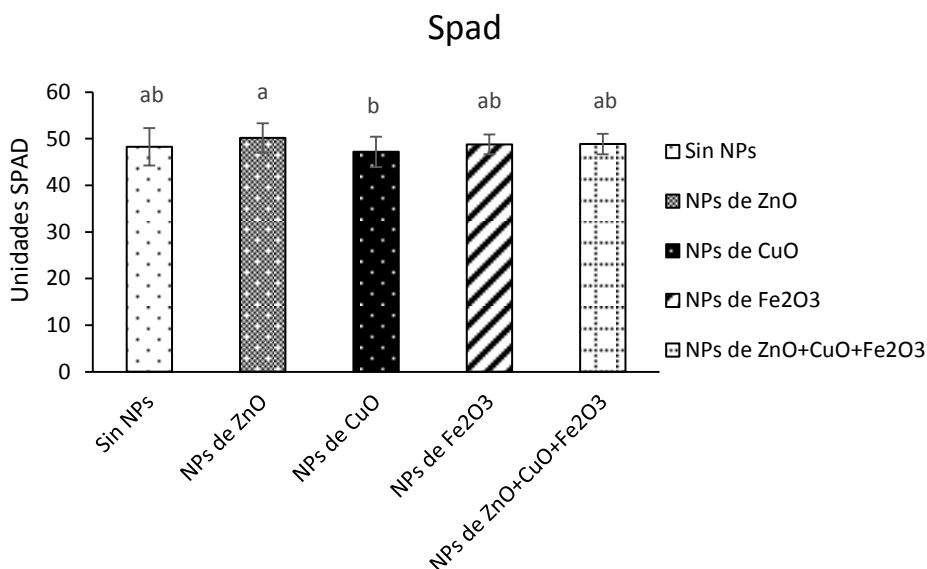


Figura 8: Unidades SPAD evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$), para el muestreo 2.

La **Figura 9** muestra los resultados obtenidos para la variable de conductancia estomática evaluadas 4 semanas posteriores a la aplicación de las NPs, y donde se presentó diferencia estadística significativa. Entre el tratamiento T3 y T1 se observó la mayor diferencia en comparación con el resto de los tratamientos. El T3 presentó mayor conductancia en comparación con T1. Estas variaciones se pueden relacionar con las condiciones climáticas, la etapa fenológica del cultivo, debido a que como se mencionó anteriormente la altura y número de hojas juegan un papel importante en la conductancia estomática, esto es a menor área foliar menor será su conductancia.

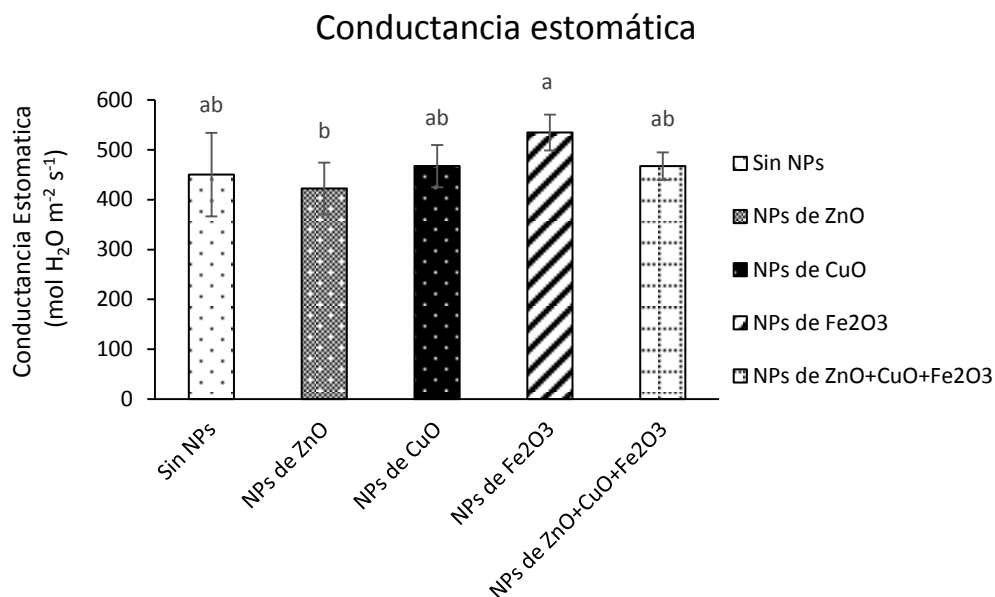


Figura 9: Conductancia estomática evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$) para el segundo muestreo.

En la Cuadro 7 se muestra los resultados obtenidos de peso fresco y seco de planta y raíz, los cuales fueron evaluados el día 11 y 15 de mayo respectivamente. Del análisis de varianza y comparación de medias, solo se encontró diferencia estadística significativa en PFTyH. El tratamiento T3 presentó el mayor peso fresco de tallo y hoja. De la Rosa *et al.*, (2013) mencionó que la aplicación de NPs favorece el incremento de biomasa en plántulas de tomate a dosis de 50 mg L^{-1} de lo cual se puede rescatar que en esta evaluación se favoreció el incremento de biomasa a concentraciones menores, 30 mg L^{-1} de Fe_2O_3 .

Cuadro 7: Variables de peso fresco y seco de tallo, hoja y raíz registradas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$).

TratamientoS	PFTyH	PSTyH	PFR	PSR
Sin NPs	53.26 b	12.78 a	26.67 a	12.99 a
NPs de ZnO	53.97 b	12.15 a	26.76 a	12.88 a
NPs. de CuO	55.11 b	11.83 a	27.83 a	14.01 a
NPs de Fe ₂ O ₃	61.84 a	12.72 a	30.17 a	14.04 a
NPs ZnO+CuO+Fe ₂ O ₃	57.90 ab	12.82 a	28.35 a	13.06 a
Coefficiente de variación.	11.0	9.03	12.51 a	15.75 a

PFTyH: peso fresco tallo y hoja, PSTyH: peso seco tallo y hoja, PFR: peso fresco raíz, PSR: peso seco de raíz.

La variable de proteínas totales se presenta en la Figura 10. Ahí se puede apreciar que existe diferencia significativa entre los tratamientos T0 y T2 son los que presentan un mayor contenido de proteínas, mientras que el tratamiento T3 presentó el valor más bajo, esto puede deberse a que al realizar una combinación de NPs estas interfieren entre sí, sin que se permita una óptima acción. Las NPs. de CuO indujeron una mayor concentración de proteínas debido a que el CuO actúa como coadyuvante en el proceso metabólico de carbohidratos y proteína en las plantas además de formar parte del proceso fotosintético. Li *et al.*, 2009 mencionaron que en estudios realizados a plantas de *Phaseolus vulgaris* y *Brassica napus* se obtuvo un incremento en el contenido de proteínas en la parte aérea de la planta por la aplicación de CuO.

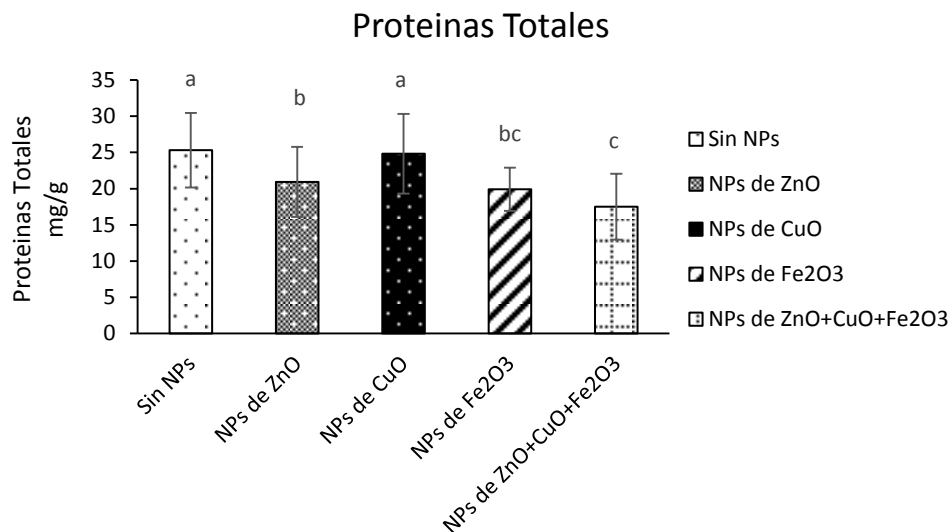


Figura 10: Contenido de proteínas totales evaluadas en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$) para el segundo muestreo.

La Figura 11 muestra el contenido de vitamina C presente en las plántulas de tomate. Del análisis es importante señalar que la diferencia que se encontró es numérica para esta variable, cabe resaltar además, que el T3 fue el que presentó un mayor contenido de vitamina C, mientras que en el caso del tratamiento T1 se obtuvo el menor contenido de Vitamina C en comparación con el resto de los tratamientos. Lo que se menciona coincide con Smirnoff *et al.*, (2000) quien encontró que al aplicar NPs de ZnO el contenido de vitamina C es reducido hasta un 30%, en comparación con el resto de los tratamientos evaluados en su investigación.

Esta vitamina influye en los procesos fisiológicos de la planta de tal manera que a menor contenido de Vitamina C ocurre menor remoción de radicales libres en la planta. Esto concuerda con lo descrito por Smirnoff *et al.*, (2000). Quien menciona que la menor cantidad de radicales disminuye la vida de la planta ya sea por estrés biótico o abiótico.

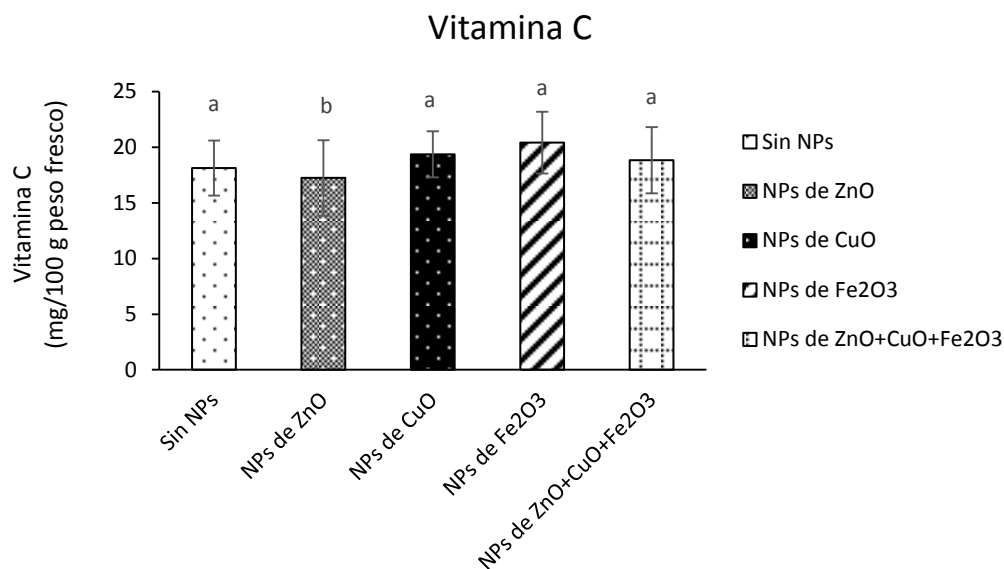


Figura 11 Contenido de vitamina C evaluada en plántulas de tomate tratadas con NPs. Letras iguales no tienen diferencia estadística ($p < 0.05$) para el segundo muestreo.

CONCLUSIONES

Se comprobó la viabilidad del método de química verde empleado en la preparación de NPs de ZnO, CuO y Fe₂O₃. Las partículas sintetizadas mostraron tamaños de cristalita de 45, 30 y 16 nm respectivamente.

El uso de NPs de ZnO, CuO y Fe₂O₃ mostró un desarrollo favorable en las plántulas de tomate, sobre todo en altura y diámetro de tallo, además de estimular la floración temprana en todos los tratamientos en comparación con el control.

El incremento en la biomasa fresca se vio favorecido para el tratamiento NPs de Fe₂O₃ siendo las partículas de hierro las que estimulan mejor el incremento en esta variable.

La aplicación de las NPs en las plántulas de tomate no tuvo efecto sobre las variables de conductancia estomática y unidades Spad.

La aplicación de NPs de CuO aumento el contenido de proteínas totales en las plántulas tratadas.

La vitamina C se vio reducida hasta en un 30 % por la aplicación de NPs de ZnO.

REFERENCIAS

- Andreu D, Rivas L. Péptidos en biología y en biomedicina. Primera edición. RAYCAR S.A. Impresiones. España. 1997, 376-382 p.
- Alder, W. N., (1981). Cobre. Efecto de la contaminación en las plantas con metales pesados 111-143.
- Ali, M.A., Rehman, I., Iqbal, A., Din, S., Rao, A.Q., Latif, A., Samiullalh, T. R., Azam, S., and Husain t. (2014). Nanotechnology: A new frontier in Agriculture. *Advancements in Life Sciences*. 1(3):129-130.
- Aouada, F. a., and De Moura, M.R. (2015). Nanotechnology Applied in Agriculture: Controlled Release of Agrochemicals. In *Nanotechnologies in Food and Agriculture*. Springer International Publishing. Pp103-118.
- Baba, Y. (2006). Nanotechnology in medicine, *Nihon Rinsho*. 64:189-98.
- Barreiro, J. & Sandoval, A. (2001). Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Editorial Equinoccio. P.359
- Borkow, G., J. Gabbay. (2009). Copper, an ancient remedy returning to fight microbial, fungal and viral infection *Curr. Chemistry Biology*. 3(3):272-278.
- Betancourt, R. Reyes, P. Y., Puente, B., Ávila-Orta, C., Rodríguez, O., Cadenas G., Lira-Saldivar, H., Garcia-cerda, L.A. (2013). Synthesis of copper nanoparticles by thermal decomposition and their antimicrobial properties. *Journal of Nanomaterials*. (2013). Article ID 980545, 5 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/980545>.
- Burman, U., Saini, M., and Kumar, P. (2013). Effect of zinc nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings. *Toxicological Environmental Chemistry*. 95(4):605-612.
- Caicedo, O. Higuera, B. L. (2007). Inducción de polifenoloxidasas en frutos de lulo (*Solanum quitoense*) como respuesta a la infección con

- Colletotrichum acutatum. *Revista Colombiana de Química* 12(1): p.p.41-54.
- Chang, Y., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., and Xing, G. (2012). The Toxic Effects and Mechanisms of CoU and ZnO Nanoparticles. *Materials*. 5(1):2850-2871.
- Dadomo, M. Gaínza, A. M. Y. Dumas, P. Bussiéres, J. Macua, M. Christou, & X. Brantho. (1994). Influence of water and nitrogen availability on yield components of processing tomato in the European Union Countries. *Acta Hortic.* p.p.376: 271-273.
- Duarte, L. E. B. Alexander, J. Rivera, C. & Cuenca, C. E. N. (2005). Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana*. 10 (2): p.49.
- Eichert, T., Kurtz, A., Steiner, U., and Goldbach, H. E. (2008). Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water-suspended nanoparticles. *Physiologia Plantarum*. 134(1):151-160.
- Escalona, C. V. Alvarado, P. V. Monardes, H M. Urbina, Z. Martin A. B. (2009). BOLETIN INFORMATIVO. N.1 EL CULTIVO DEL TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.).
- Fang, T., Watson J. L., Goodman, J., Dimkpa, C. O., Martineau, N., Das, S., McLean, J. E., Britt, D. W., and Anderson, A. J. (2013). Does doping with aluminium alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonas. *Microbiological Research*. 168(2):91-98.
- Fao. (2012). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [En línea] disponible en FAO <http://agriculturers.com/el-tomate-ocupa-en-el-mundo-casi-cinco-millones-de-hectareas/>. [accesado en octubre 2016].

- Fira. (2014). Rentabilidad y costos del cultivo de tomate de Sinaloa. Dirección General Adjunta de Inteligencia Sectorial [En línea] disponible En [www.financierarural.gob.mx/.../Panorama%20Jitomate%20\(abr%202014](http://www.financierarural.gob.mx/.../Panorama%20Jitomate%20(abr%202014). [accesado noviembre de 2016].
- Intagri. (2016). la nanotecnología en la nutrición vegetal [en línea] disponible En <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/la-nanotecnologia-en-la-nutricion-vegetal#> [accesado noviembre 2016].
- Jaramillo, J., Rodríguez, V. P., Guzmán, M., Zapata. M., Rengifo, T. (2007). Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas. Primera edición. Colombia. CORPOICA.
- Juárez-Maldonado, A., De Alba, R. K. Zermeño G, A. Ramírez, H. & Benavides M., A. (2015). Análisis de crecimiento del cultivo de tomate en invernadero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6 (5), p.p.943-954.
- Kyung-Seok, K., and Kong, C. I. (2014). Toxic effects of nanoparticles on bioluminescence activity, seed germination, and gene mutation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98(7):3295-3303.
- Moukrad, N., Rhazi., Daou, I., and Zegaoui, O. (2014). Phytotoxic activity of the zinc oxide nanoparticles synthesized from different precursor on germination and radicle growth of *Lepidium sativus* *International Journal of Scientific and Research Publications* 4(129):1-6.
- Nadiel, M. R., and Danesh-Shahraki, A.(2013). Nanofertilizers and their roles in sustainable agruculture. *International Journal of Agriculture and Crops Sciences*. 5(19):2229-2232.
- Padayatt, S. J., R. Daruwala, Y. Wang, P. K. Eck, J. Song, W. S. Koh, and M. Levine. (200). 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.
- Pandey, A. C., Sanjay, S. S., and Yadav, R. S. (2010). Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. Journal de Experimental Nanoscience. 5(6):488-497.
- Panwar, J., Jain, N., Bhargava, A., Akhtar, M. S., and Yun, Y. S. (2012). Positive effect of zinc oxide nanoparticles on tomato plants: A step towards developing "nanofertilizers". International Conference on Environmental Research and Technology (ICERT). Pinang, Malaysia.
- Pate, N., Desai, Patel, N., Jha, A., and Gautam, H.K. (2014). Agronanotechnology for Plant Fungal Disease Management. International Journal Current Microbiology and Applied Sciences. 3(10):71-84.
- Prasad, R., Kumar, V., and Suranjit Prasad, K. (2014). Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects. African Journal of Biotechnology. 13(6):705-713.
- Peng, C., Duan, D., Xu, C., Chen, Y., Sun, L., Zhang, H., Yuan, X., Zheng, L., Yang, Y., Yang, J., Zhen, X., Chen Y., and Shi J. (2015). Translocation and biotransformation of CuO nanoparticles in rice (*Oryza sativa*) plants. Environmental Pollution. 19(1):99-107.
- Pereira, A. S. E., Grillo, R., Mello, N. F. S., Rosa, A. H., and Fraceto L. F. (2014). Application of poly (epsilon-caprolactone) nanoparticles containing atrazine herbicide as an alternative technique to control weed and reduce damage to the environment. Journal of Hazardous Materials. 268(1):207-216.
- Rico, C. M., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey J. L. (2015). Chemistry/biochemistry of nanoparticles and their role in antioxidant defense system in plants. In: Nanotechnology and Plant Sciences. Nanoparticles and Their Impact on Plants.

- Sagarpa. (2010). Sistema de información Agroalimentaria de consulta. En: Sagarpa, página principal [En línea] disponible en: www.sagarpa.gob.mx [accesado noviembre 2016].
- Sagarpa. (2012). Sistema de información Agroalimentaria de consulta. En: Sagarpa, página principal [En línea] disponible en http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/paginas/agricultura_protegida2012.aspx [accesado noviembre 2016].
- Sabourin, V., and Ayande, A. (2015). Commercial Opportunities and Market Demand for Nanotechnologies in Agribusiness Sector *Journal of Technology Management and Innovation*. 10(1):40-51.
- Siap. (2016). Servicio de Información Agraria y Pesquera. En: Siap, página principal [En línea] disponible en http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp [accesado mayo 2016].
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, H., M., and Mohamad , F. (2015). *Nanotechnology and Plant Science. Nanoparticles and Their Impact on Plants*. Springer International Publishing Switzerland. ISBN 978-3-319-14502-0. Aligarh, UP, India. 305 Pp.
- Srilatha, B. (2011) *Nanotechnology in agriculture*. *J. Nanomedic Nanotechnology* 2(7):1-5.
- Siva, G.V. y Benita, L. F. J. (2016). The iron oxide nanoparticles promotes Agronomic Traits ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Int J. adv. Res. Biol. Sci (India)*, 3(3):230-237.
- Smirnoff, N. y Wheeler, G. L. (2000). Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 35:(4) 291-314.

- Tarafdar, J. C., Raliya, R., Mahawar, H., and Rathore, I. (2014). Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*. 3(3):257-262.
- USDA. (2013). The U. S and World Tomato Situation. USDA. Foreign Agricultural Service Horticultural & Tropical Products [En línea] disponible En <https://www.seedquest.com/News/.../USDA.htm> [accesado noviembre de 2016].
- Wang, S., Liu, H., Zhang, Y., Xin, H. (2015). The effect of CuO NPs on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots rice. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 34(3):554-561.
- Xue, J., Luo, Z., Li, P., Ding, Y., Cui, Y., and Wu, Q. (2014). A residue-free green synergistic antifungal nanotechnology for pesticide thiram by ZnO nanoparticles. *Scientific Reports*. 4(5408):1-9.