

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TORREÓN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**FERTILIZACIÓN FOLIAR DE NP_sCuO PARA MEJORAR CALIDAD
NUTRACÉUTICA Y LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN LECHUGA**

Tesis que presenta:

TONY GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SUELOS

Director de tesis:

DR. MANUEL FORTIS HERNÁNDEZ



Torreón, Coahuila, México

Marzo, 2022

Tesis elaborada bajo la dirección del comité particular de tesis la cual ha sido aprobada y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SUELOS

COMITÉ PARTICULAR

Director de tesis:

Dr. Manuel Fortis Hernández

Co-director de tesis:

Dr. Bernardo Espinosa Palomeque

Asesor:

Dr. Pablo Preciado Rangel

Asesor:

Dr. Héctor Zermeño González

Torreón, Coahuila, México, 2022

DEDICATORIA

A mi madre **Lilia Rodríguez Aguilar** por su apoyo, cariño, confianza y comprensión en esta etapa de mi vida, gracias por ser la persona más importante de mi vida, mi gran inspiración.

A mi hermano **Juan Carlos González Rodríguez** por ser parte importante en mi vida, su amistad y su gran apoyo incondicional.

A mi hermana **M.C. Gabriela González Rodríguez** por su apoyo incondicional, sus consejos, su amistad, además de apoyarme durante mi estudio de posgrado.

† De manera especial este trabajo está dedicado en memoria de mi abuelo **Oscar Albino Rodríguez Aguilar**, una persona muy importante, gracias por sus valiosos consejos y dejarme grandes enseñanzas en la vida.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a **Dios** por brindarme la vida y la oportunidad de vivir esta gran experiencia.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACyT), por brindarme el apoyo económico para continuar con mis estudios de posgrado.

Al **Instituto Tecnológico de Torreón** (ITT), por brindarme la oportunidad de realizar la Maestría en Ciencias en suelos y prepararme como profesionista.

Al **Dr. Manuel Fortis Hernández**, por haberme brindado la oportunidad de realizar esta investigación y por haber compartido gran parte de sus conocimientos.

A mis asesores, **Dr. Bernardo Espinosa Palomeque, Dr. Pablo Preciado Rangel y Dr. Héctor Zermeño González**, por su valiosa colaboración en el desarrollo de la investigación.

A la **M.C. Leticia Alfaro Hernández** por brindarme su amistad y ser una excelente persona, siempre apoyando durante todo el transcurso de la Maestría.

A mis grandes amigos **Janet Sánchez y Adriel Ortiz** con los que compartí grandes experiencias durante mi formación académica.

A mis compañeros de maestría **Damián García, Dennis Cruz y Verónica de la Rosa**.

ÍNDICE

Página

COMITÉ PARTICULAR	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
ÍNDICE.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
RESUMEN.....	X
SUMMARY.....	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos.....	4
1.1.1 Objetivo general	4
1.1.2 Objetivos específicos.....	4
1.2 Hipótesis.....	5
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 Importancia del cultivo de lechuga.....	6
2.1.1 Valor nutricional de la lechuga	6
2.1.2 Importancia de la lechuga a nivel mundial.....	7
2.1.3 Importancia de la lechuga en México	8
2.2 Hidroponía	9
2.2.1 Sistema hidropónico NFT (Nutrient Film Technique).....	10
2.2.2 Ventajas y desventajas del sistema NFT.....	11
2.3 Biofortificación	12
2.4 Nanotecnología.....	13
2.5 Nanopartículas.....	15
2.6 Nanopartículas de óxido de cobre	16
2.6.1 Fitotoxicidad de las nanopartículas de óxido de cobre	16
2.6.2 Síntesis química de nanopartículas de óxido de cobre.....	17

2.7 Importancia del cobre	18
2.7.1 El cobre en plantas.....	18
2.7.2 Exceso y deficiencia de cobre en plantas.....	19
2.7.3 El cobre en el cuerpo humano.....	21
2.7.4 Fuentes naturales de cobre	22
2.8 Fertilización foliar.....	23
2.8.1 Mecanismos de absorción foliar	24
2.9 Compuestos bioactivos.....	25
2.9.1 Fenoles.....	25
2.9.2 Flavonoides	26
2.9.3 Capacidad antioxidante	27
2.10 Actividad enzimática	27
2.10.1 Peroxidasas.....	28
2.10.2 Catalasa	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1 Localización del experimento	30
3.2 Condiciones de la malla sombra.....	31
3.3 Diseño experimental	31
3.4 Material vegetal	32
3.5 Trasplante.....	33
3.6 Nutrición del cultivo.....	34
3.7 Generalidades de las nanopartículas de óxido de cobre	35
3.8 Aplicación foliar de nanopartículas de óxido de cobre	36
3.9 Labores culturales	37
3.10 Plagas y enfermedades	37
3.11 Variables agronómicas evaluadas	38
3.11.1 Altura de planta	38
3.11.2 Número de hojas	39
3.11.3 Diámetro de corona.....	39
3.11.4 Ancho y largo de hoja.....	39

3.11.5 Peso fresco de raíz.....	40
3.11.6 Clorofila	40
3.12 Variables de rendimiento	40
3.12.1 Peso fresco	41
3.12.2 Peso seco.....	41
3.13 Liofilización de muestras	41
3.14 Variables de calidad nutracéutica	42
3.14.1 Fenoles.....	42
3.14.2 Flavonoides	43
3.14.3 Capacidad antioxidante	43
3.15 Variables de actividad enzimática.....	44
3.15.1 Peroxidasa	44
3.15.2 Catalasa	45
3.16 Determinacion de Cobre	45
3.17 Analisis estadístico	46
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
4.1 Variables agronómicas	47
4.2 Variables de rendimiento	51
4.2.1 Peso fresco y seco	51
4.3 Calidad nutracéutica	52
4.3.1 Fenoles.....	52
4.3.2 Flavonoides	54
4.3.3 Capacidad antioxidante	56
4.4 Actividad enzimática	57
4.4.1 Enzima Peroxidasa y Catalasa.....	57
4.5 Cobre.....	59
V. CONCLUSIONES.....	62
VI. LITERATURA CITADA	63

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 2.1. Contenido de nutrientes por 100 g de producto comestible de <i>Lactuca sativa</i> L.	6
Cuadro 2.2. Ingesta diaria de cobre recomendada en personas.	21
Cuadro 2.3. Fuentes naturales de cobre.	22
Cuadro 3.1. Tratamientos aplicados en el experimento.....	32
Cuadro 3.2. Fertilizantes utilizados para preparar la solución nutritiva (100%), para 200 L de solución.	35
Cuadro 3.3. Concentración de la solución nutritiva utilizada en el experimento.....	35
Cuadro 3.4. Características de las NPsCuO aplicadas en el experimento.	36
Cuadro 4.1. Comparación de medias para variables agronómicas en plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) producidas con aplicación foliar de NPsCuO.	49
Cuadro 4.2. Comparación de medias de las variables peso fresco (PF) y peso seco (PS) en plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) producidas con aplicación foliar de NPsCuO.....	52
Cuadro 4.3. Comparación de medias de la actividad enzimática de peroxidasa y catalasa en plantas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) producidas con aplicación foliar de NPsCuO.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1. Principales países productores de lechuga a nivel mundial (toneladas) (FAOSTAT, 2020).....	8
Figura 2.2. Principales estados productores de lechuga en México (SIAP, 2020).	9
Figura 2.3. Diagrama esquemático de un sistema hidropónico NFT (Niu y Masabni, 2022).....	10
Figura 2.4. Métodos de biofortificación de cultivos (Márquez-Quiroz <i>et al.</i> , 2015).	13
Figura 2.5. Aplicación de la nanotecnología en distintos campos (Naido y Kistnasamy, 2015).....	14
Figura 2.6. Sistemas de transporte del Cu en las plantas (Pilon, 2011).....	25
Figura 3.1. Localización del sitio experimental.....	30
Figura 3.2. Plántulas de lechuga en semillero de foami agrícola (espuma agrícola).	33
Figura 3.3. Trasplante de plántulas de lechuga al sistema hidropónico (NFT).....	34
Figura 3.4. Aplicación foliar de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO).....	37
Figura 3.5. Cosecha de las plantas de lechuga.	38
Figura 4.1. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en el contenido total de clorofila en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT.	50
Figura 4.2. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en el contenido de fenoles en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT.	54

Figura 4.3. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en el contenido de flavonoides en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT.....	55
Figura 4.4. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en la capacidad antioxidante en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT..	57
Figura 4.5. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en el contenido de Cu en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT.....	61

RESUMEN

La baja calidad nutrimental en los alimentos afecta directamente a la salud humana, principalmente a los países en vía de desarrollo. La nanotecnología es una técnica prometedora para reducir los desórdenes alimenticios provocados por el déficit de micronutrientes, a través de la aplicación de nanopartículas para biofortificar los alimentos. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) en la morfología, rendimiento, calidad nutracéutica, actividad enzimática y concentración de Cu en plantas de lechuga. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con seis tratamientos y cinco repeticiones, los tratamientos fueron diferentes concentraciones de NPsCuO (0, 5, 10, 15, 20 y 25 mg L⁻¹). Se evaluaron variables de fenología, rendimiento, calidad nutracéutica, actividad enzimática y determinación de cobre. La aplicación foliar de NPsCuO no afectó el rendimiento en el cultivo, sin embargo, la dosis de 15 mg L⁻¹ de NPsCuO mejoró el contenido de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en plantas de lechuga. La dosis de 15 mg L⁻¹ de NPsCuO mejoró la actividad de la enzima peroxidasa. El uso de 25 mg L⁻¹ favoreció la bioacumulación de Cu en las hojas de lechuga. La aplicación foliar de NPsCuO podría ser una alternativa para incrementar la calidad nutracéutica en plantas de lechuga producidas en el sistema hidropónico NFT.

Palabras clave: *Lactuca sativa* L., calidad nutracéutica, actividad enzimática.

SUMMARY

The low nutritional quality of food directly affects human health, mainly in developing countries. Nanotechnology is a promising technique to reduce eating disorders caused by micronutrient deficiencies, through the application of nanoparticles to biofortify foods. The objective of the research was to evaluate the effect of foliar application of copper oxide nanoparticles (NPsCuO) on the morphology, yield, nutraceutical quality, enzymatic activity and Cu concentration in lettuce plants. A completely randomized experimental design with six treatments and five repetitions was used, the treatments were different concentrations of NPsCuO (0, 5, 10, 15, 20 and 25 mg L⁻¹). Variables of phenology, yield, nutraceutical quality, enzymatic activity and copper determination were evaluated. The foliar application of NPsCuO did not affect crop yield, however, the dose of 15 mg L⁻¹ of NPsCuO improved the content of phenols, flavonoids and antioxidant capacity in lettuce plants. The dose of 15 mg L⁻¹ of NPsCuO improved the activity of the peroxidase enzyme. The use of 25 mg L⁻¹ favored the bioaccumulation of Cu in the lettuce leaves. The foliar application of NPsCuO could be an alternative to increase the nutraceutical quality in lettuce plants produced in the NFT hydroponic system.

Keywords: *Lactuca sativa* L., nutraceutical quality, enzyme activity.

I. INTRODUCCIÓN

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una de las principales hortalizas cultivadas y consumidas a nivel mundial, en el año 2019 su producción alcanzo los 29,134,653 toneladas (FAOSTAT, 2020). En el 2019 el principal productor de esta hortaliza fue China con 16,310,175 toneladas, México ocupo el noveno lugar con una producción de 516,000 toneladas (SIAP, 2020). La lechuga es una hortaliza saludable debido a su alto contenido en fibra, carotenoides, compuestos fenólicos, antioxidantes, vitaminas A, C y minerales (Camejo *et al.*, 2020).

Existe una problemática a nivel mundial denominada hambre oculta, la cual es la deficiencia de micronutrientes y vitaminas que afecta alrededor de 2 000 millones de personas en el mundo, esto debido al consumo de alimentos con una baja calidad nutricional y dietas inadecuadas, lo cual contribuye a problemas de salud pública graves, especialmente para niños en edad preescolar, mujeres embarazadas y mujeres en edad reproductiva (FAO, 2014).

En la actualidad el campo de la nanotecnología tiene un efecto prometedor y emergente para ser aplicado en la agricultura como nanofertilizantes, nanoinsecticidas y nanoferomonas (Pérez-Labrada *et al.*, 2014). Con el uso de la nanotecnología en la agricultura se podría contribuir en varios países a reducir los desórdenes alimenticios provocados por el déficit de micronutrientes contenidos en los alimentos (Elemike *et al.*, 2019).

La aplicación de nanopartículas (NPs) es una de las técnicas actuales más prometedoras para la biofortificación de alimentos, debido a sus propiedades fisicoquímicas y biológicas (Singh *et al.*, 2021). Las NPs se aplican mediante pulverización foliar o en solución nutritiva, con la finalidad de biofortificar los tejidos vegetales comestibles con elementos minerales esenciales en la dieta humana: Cobre (Cu) Zinc (Zn), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Yodo (I) (Freire *et al.*, 2020; Jampílek, 2020).

Las NPs CuO tienen un gran potencial debido a su actividad antimicrobiana de amplio espectro, además debido a su pequeño tamaño facilita su absorción por las plantas (Rai *et al.*, 2018). El Cu es un oligoelemento esencial para humanos y animales, en plantas desempeña un papel importante en distintos procesos fisiológicos, como cadenas de transporte de electrones fotosintéticas y respiratorias, fijación de nitrógeno, actividad antioxidante, metabolismo de proteínas, componente estructural y catalítico de proteínas y enzimas (Karimí *et al.*, 2012; Lira *et al.*, 2018).

Resultados encontrados por Pérez-Labrada *et al.* (2019) mencionan que la pulverización de NPs CuO , en el cultivo de tomate bajo condiciones de salinidad puede inducir la tolerancia al estrés salino al estimular los mecanismos de la planta, además López-Vargas *et al.* 2018 encontraron que la aplicación de NPs CuO induce una mayor acumulación de compuestos bioactivos en frutos de tomate. Hafeez *et al.* (2015) mencionan que las NPs CuO tienen el potencial para mejorar el crecimiento y el rendimiento en plantas de trigo, pero su efecto depende

directamente de la concentración. Sin embargo, Xiong *et al.* (2021), refieren que al aplicar concentraciones elevadas de NPsCuO (1000 mg L^{-1}) en plantas de lechuga, se inhibió el crecimiento de la planta y alteró el estado de los nutrientes en las plantas como el Mn, K y Ca. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) en la morfología, rendimiento, calidad nutracéutica, actividad enzimática y concentración de Cu en plantas de lechuga.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) en la morfología, rendimiento, calidad nutracéutica, actividad enzimática y concentración de Cu en plantas de lechuga.

1.1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la aplicación foliar de NPsCuO sobre la morfología y rendimiento en plantas de lechuga.
- Cuantificar compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO.
- Cuantificar la actividad enzimática de peroxidasa y catalasa en hojas de lechuga.
- Determinar la concentración de cobre en hojas de lechuga producidas en un sistema hidropónico NFT.

1.2 Hipótesis

- La aplicación foliar de NPsCuO de 15 mg L⁻¹ incrementará variables morfológicas, rendimiento, compuestos bioactivos, actividad enzimática y mayor concentración de Cu, en plantas de lechuga producidas en un sistema hidropónico NFT.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia del cultivo de lechuga

2.1.1 Valor nutricional de la lechuga

La lechuga es considerada una hortaliza saludable debido a su contenido en fibra, vitamina C, ácido fólico, carotenoides, compuestos fenólicos y minerales como el calcio y hierro, además de compuestos como antocianinas y clorofila, que son propiedades beneficiosas para la salud humana (Camejo *et al.*, 2020; Shatilov *et al.*, 2019). Los carotenoides están relacionados con la prevención de enfermedades crónicas (Baslam *et al.*, 2013). Además, las lechugas son bajas en calorías, grasas y sodio (Kim *et al.*, 2016).

Cuadro 2.1. Contenido de nutrientes por 100 g de producto comestible de *Lactuca sativa* L.

Nutrientes	Contenido de nutrientes por 100 g
Agua (g)	94.6
Energía (kcal)	17
Proteína (g)	1.23
Lípido total (grasa) g	0.30
Carbohidratos (g)	3.28
Fibra dietética (g)	2.1
Azúcar total (g)	1.19
Calcio (mg)	33
Hierro (mg)	0.97
Magnesio (mg)	14

Fosforo (mg)	30
Potasio (mg)	247
Sodio (mg)	8
Zinc (mg)	0.23
Cobre (mg)	0.048
Manganeso (mg)	0.155
Selenio (mg)	0.4
Vitamina A, (IU)	5807
Vitamina B-6 (mg)	0.074
Vitamina C (mg)	24
Vitamina E (mg)	0.13
Vitamina K (µg)	102.5
Folato (µg)	136
Niacina (mg)	0.313
Acido pantoténico (mg)	0.142
Tiamina (mg)	0.072

Fuente: Mou (2008).

2.1.2 Importancia de la lechuga a nivel mundial

El cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una de las principales hortalizas cultivadas y consumidas en el mundo, tienen una gran demanda debido a que se consumen en fresco (SIAP, 2020). La producción mundial de lechuga en el año 2019 fue de 29,134,653 toneladas. Entre los mayores productores de esta hortaliza esta China con una participación del 60.43%, seguido de Estados Unidos con 12.66%, India con 4.33%, España con 3.47% e Italia con 2.6%, mientras que México se encuentra en el noveno puesto (FAOSTAT, 2020).

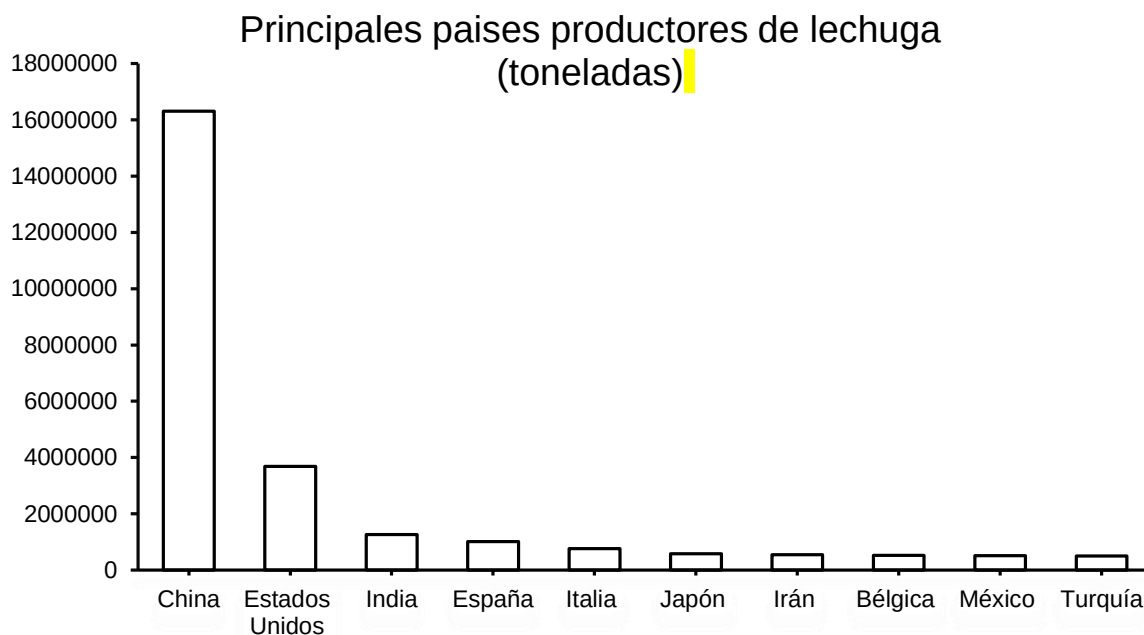


Figura 2.1. Principales países productores de lechuga a nivel mundial (toneladas) (FAOSTAT, 2020)

2.1.3 Importancia de la lechuga en México

La producción de lechuga en México en el año 2020 fue de 539,000 toneladas, es decir creció un 4.5% con respecto al año 2019 donde se produjeron 516,000 toneladas. La lechuga se produce en 21 estados del país, siendo el estado de Guanajuato el mayor productor con una participación del 27.3%, seguido de Zacatecas con 17.8%, Aguascalientes con 14.8% y Puebla con 14.2%. La exportación de la lechuga en el 2020 fue de 261,000 toneladas, siendo Estados Unidos el principal mercado de exportación (SIAP, 2020).

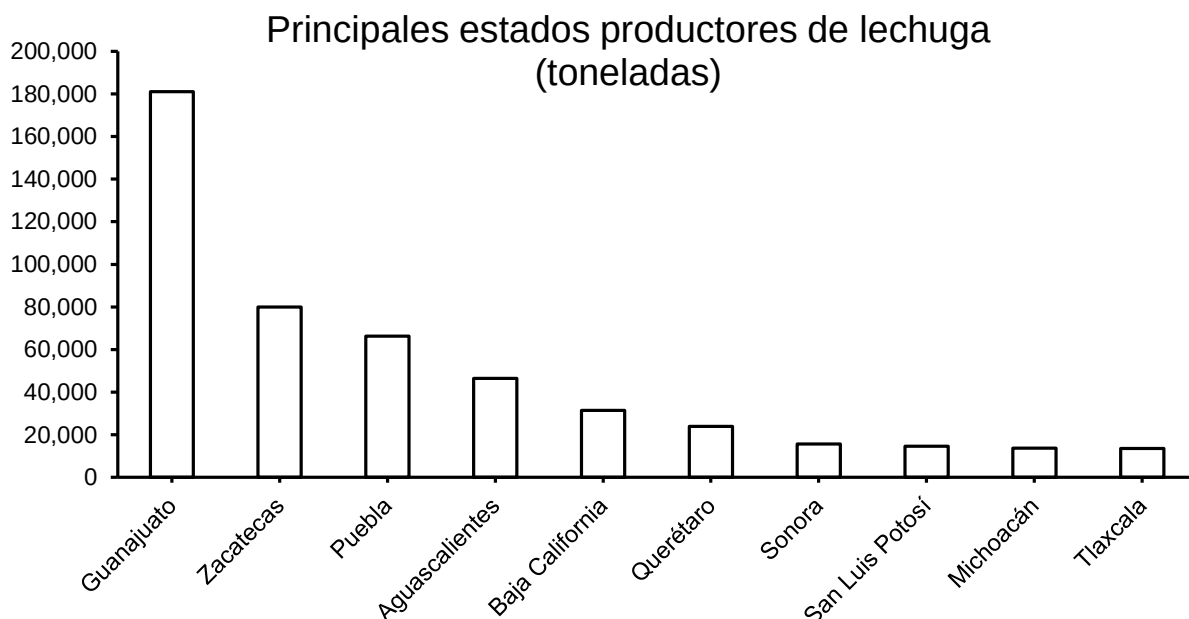


Figura 2.2. Principales estados productores de lechuga en México (SIAP, 2020)

2.2 Hidroponía

La hidroponía se refiere a la tecnología que se puede utilizar tanto para la producción intensiva de hortalizas y ornamentales, es una alternativa para los productores de escasos recursos o cuando se poseen suelos degradados, en la actualidad el uso de sistemas hidropónicos se incrementó debido a las ventajas sobre los cultivos de suelo (Lee y Lee, 2015).

Los sistemas de cultivo hidropónico se dividen en dos grupos: abiertos y cerrados en función del movimiento de la solución nutritiva. Los sistemas cerrados son aquellos en los que la solución nutritiva se recircula aportando de forma más

o menos continua los nutrimentos que la planta va consumiendo y los sistemas abiertos, en ellos la solución nutritiva se drena sin recirculación (Ruis-Ruiz *et al.*, 2014).

2.2.1 Sistema hidropónico NFT (Nutrient Film Technique)

El cultivo en película nutritiva, por sus siglas en inglés NFT (Nutrient Film Technique), o también denominado como técnica cultivo con flujo laminar de nutrimentos. El sistema NFT tiene beneficios respecto a sistemas de producción convencional y surge como una importante alternativa al creciente problemas de escasez de tierras y de agua (Espinoza *et al.*, 2018).

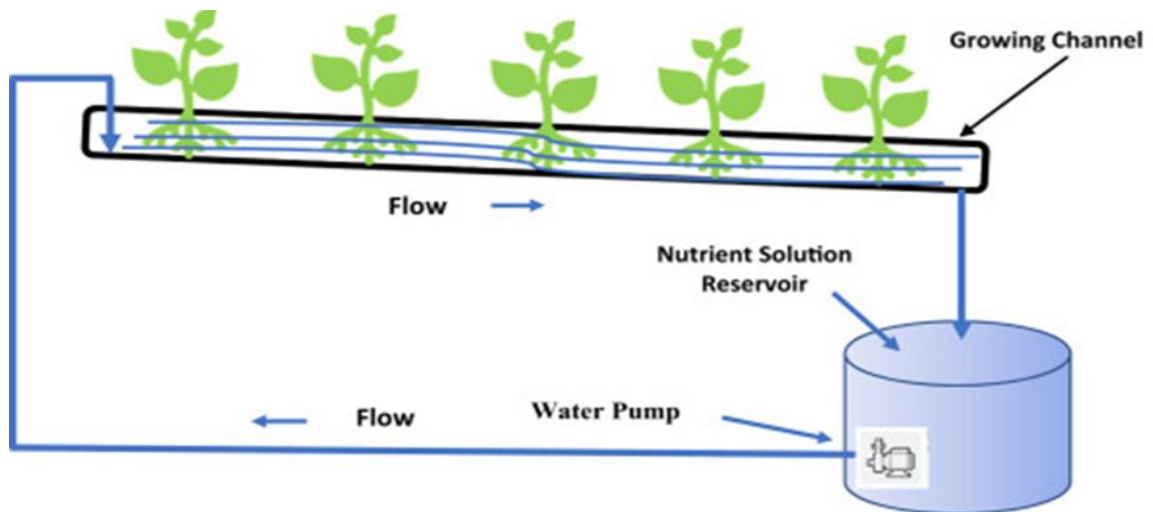


Figura 2.3. Diagrama esquemático de un sistema hidropónico NFT (Niu y Masabni, 2022).

Se originó en Inglaterra, consiste en aplicar una lámina de solución nutritiva que fluctúa de 0.5 a 1.0 cm, la cual circula por tuberías con perforaciones en la parte superior, donde se establecen las plantas, el movimiento de la solución nutritiva dentro de las tuberías hacia el tanque es por gravedad, debido a la inclinación (4 a 5 %), la bomba distribuye la solución nutritiva desde el tanque recolector hasta el inicio de las tuberías. La característica principal es que es un sistema cerrado con la solución recirculando se es más eficiente en el uso de agua y nutrientes, además existen diversos diseños entre ellas circulares, rectangulares, hexagonales, etc. (Sánchez- Del Castillo *et al.*, 2014).

2.2.2 Ventajas y desventajas del sistema NFT

Se recomienda para la producción de hortalizas de hoja comestible por ejemplo la lechuga, debido a que es una técnica sencilla, de fácil operación y mantenimiento, tiene alta eficiencia en el uso de agua, un potencial en producción, es respetuosa con el medio ambiente, se obtienen cosechas más precoces, mayor rendimiento, mejor calidad, ahorro de agua, mayores relaciones costo-beneficio, no depende del suelo y producción de alimento todo el año (Majid *et al.*, 2020).

El sistema NFT presenta algunas desventajas como es el costo de energía, la formulación y monitoreo frecuente del pH y CE de la solución nutritiva

(Manqueos-Aviles, 2015). Debido a que con el tiempo es difícil mantener el balance nutricional y controlar las enfermedades que atacan a la raíz, lo que podría causar un rendimiento menor en comparación a los sistemas donde dicha solución no se recircula (Sánchez- Del Castillo *et al.*, 2014).

2.3 Biofortificación

La biofortificación es una técnica prometedora, rentable y sostenible con visión al futuro, para poder administrar micronutrientes a poblaciones que tienen acceso limitado a diversas dietas y otras intervenciones con micronutrientes (Garg *et al.*, 2018). Es la práctica de aumentar deliberadamente el contenido de micronutrientes en las partes comestibles de las plantas, con la finalidad de mejorar la calidad nutricional, y proporcionar un beneficio para salud humana, se puede lograr mediante la fertilización mineral, fitomejoramiento convencional o biotecnología moderna (Rosell, 2016).

La biofortificación agronómica proporciona una ruta inmediata y eficaz para mejorar las concentraciones de micronutrientes en los productos de cultivos comestibles, aunque la biofortificación genética puede ser más rentable a largo plazo (De Valença *et al.*, 2017). Desde el enfoque económico, la biofortificación es una inversión única, rentable a largo plazo y sostenible para poder combatir el hambre oculta. Los cultivos biofortificados se pueden distribuir a los consumidores

a través de las mismas prácticas tradicionales utilizadas por el comercio de alimentos (Hefferon, 2016).

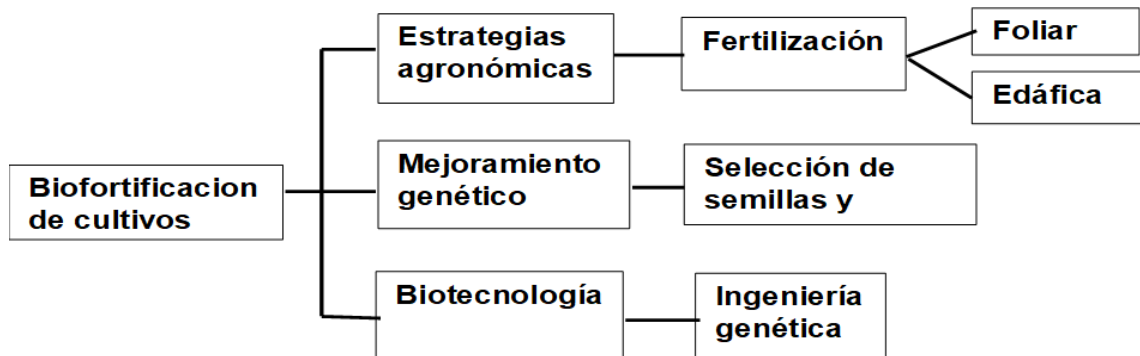


Figura 2.4. Métodos de biofortificación de cultivos (Márquez-Quiroz *et al.*, 2015).

Se ha logrado avances importantes en la última década para mejorar generar cultivos básicos biofortificados como el arroz (*Oryza sativa* L.), trigo (*Triticum aestivum*), maíz (*Zea mays*), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), mijo perla (*Pennisetum americanum* Leake), frijoles (*Phaseolus vulgaris*), batata (*Ipomoea batatas*) mejorados con un alto contenido de Fe, Zn y provitamina A, a través del fitomejoramiento tradicional (Bouis y Welch, 2010; Hefferon, 2015).

2.4 Nanotecnología

La nanotecnología es la tecnológica emergente de la actualidad, estudia los materiales a escala atómica o molecular, que van de 1 a 100 nanómetros de

tamaño, que pueden ser aplicados en diversos campos como la medicina, electrónica y en la agricultura (Lira *et al.*, 2018; Muhammad *et al.*, 2020). El uso de la nanotecnología promete mejorar los rendimientos y calidad del cultivo, siendo esta una solución para superar las deficiencias de las prácticas agrícolas tradicionales (Shukla *et al.*, 2019).

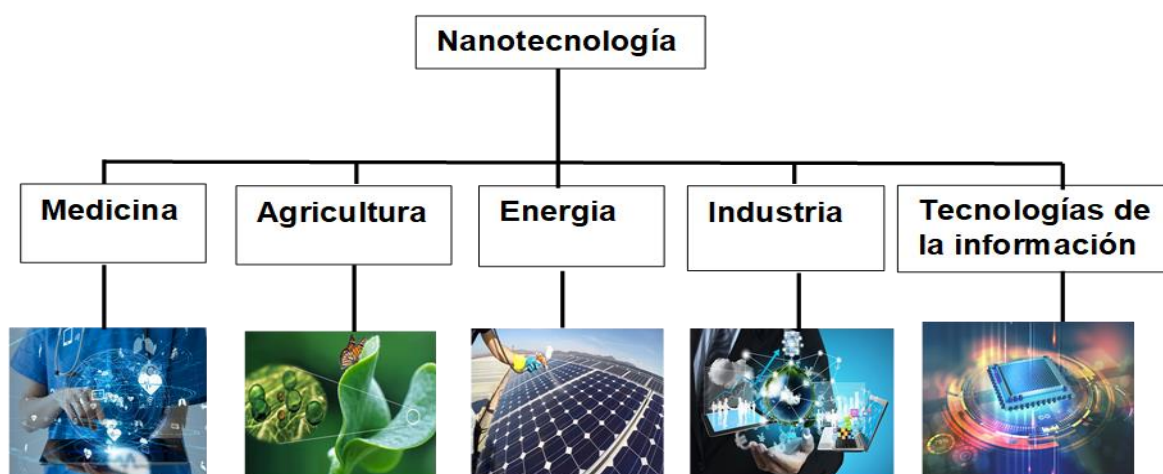


Figura 2.5. Aplicación de la nanotecnología en distintos campos (Naidoo y Kistnasamy, 2015).

En el sector agroalimentario juega un papel importante para la producción de cultivos, procesamiento y envasado de alimentos, seguridad alimentaria, mejoramiento y protección de plantas (Pramanik *et al.*, 2020). Los beneficios de la nanotecnología, incluye el manejo de plagas a través de formulaciones de insecticidas a base de nanomateriales, aumento en la productividad agrícola

mediante las nanopartículas debido a su liberación lenta y localizada de nutrientes en las plantas (Rai e Ingle, 2012).

2.5 Nanopartículas

Los efectos de aplicación de las NPs pueden variar de acuerdo a la etapa de crecimiento del cultivo, el método de aplicación, composición química, tamaño de partícula, concentración, agregación y solubilidad (Jampílek y Kráľová, 2020). Los microelementos nanoestructurados juegan un papel fundamental en la resistencia a enfermedades de las plantas a través de la activación enzimática y la mejora de eficiencia de la producción energética mediante la maquinaria fotosintética (Vuong, 2019).

Los nanomateriales ofrecen una alternativa para mejorar la eficiencia y sostenibilidad de las prácticas agrícolas, al reducir los insumos y generar menos residuos en comparación a los productos convencionales (Ojeda-Barrios *et al.*, 2020). Las NPs se aplican mediante pulverización foliar o en solución nutritiva, con la finalidad de biofortificar los tejidos vegetales comestibles con elementos minerales esenciales en la dieta humana: Cobre (Cu), Hierro (Fe), Zinc (Zn), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Yodo (I) (Freire *et al.*, 2020).

2.6 Nanopartículas de óxido de cobre

Las NPsCuO tienen un gran potencial debido a su actividad antimicrobiana de amplio espectro, además debido a su pequeño tamaño facilita su absorción por las plantas (Rai *et al.*, 2018).

Resultados encontrados por Pérez-Labrada *et al.*, (2019), mencionan que la pulverización de NPsCuO, en el cultivo de tomate bajo condiciones de salinidad puede inducir la tolerancia al estrés salino al estimular los mecanismos de la planta, además López-Vargas *et al.*, (2018), encontraron que la aplicación de NPsCuO induce una mayor acumulación de compuestos bioactivos en frutos de tomate. Hafeez *et al.*, (2015), mencionan que las NPsCuO tienen el potencial para mejorar el crecimiento y el rendimiento en plantas de trigo, pero su efecto depende directamente de la concentración. González-Gómez *et al.*, (2017) encontraron que al aplicar hidrogel de quitosano-alcohol polivinílico con nanopartículas de cobre absorbidas (Cs-PVA-nCu), aumenta el ancho de estomas, la longitud del tallo primario y la longitud de la raíz en un 7%, 8% y 14%, respectivamente.

2.6.1 Fitotoxicidad de las nanopartículas de óxido de cobre

Estudios recientes sobre la toxicidad de los nanomateriales evidencian algunos efectos negativos en el crecimiento y el desarrollo de las plantas, esto

debido al tamaño nanométrico que pueden ser más tóxicas que los materiales a granel convencional. Las hojas de las plantas son capaces de absorber e interceptar las NPs que se aplican en la superficie, llegando a provocar una fitotoxicidad grave.

Alguno de los efectos tóxicos encontrados al aplicar NPsCuO en cultivos, es la disminución de la longitud en brotes y raíces, inhibición de la germinación de semillas, cambios morfológicos y enzimáticos, así como la reducción en la tasa de fotosíntesis y respiración (Rajput *et al.*, 2018). Datos reportados por Xiong *et al.*, (2021), refieren que al aplicar concentraciones elevadas de NPsCuO (1000 mg L^{-1}) en plantas de lechuga producidas en hidroponía, se inhibió severamente el crecimiento de la lechuga y alteró el estado de los nutrientes en las plantas como el Mn, K y Ca.

2.6.2 Síntesis química de nanopartículas de óxido de cobre

El método utilizado para la síntesis de nanoestructuras de Cu juega un papel muy importante, donde un buen control en el tamaño, la forma y la distribución espacial de las partículas es de vital importancia. Las propiedades fisicoquímicas de las NPsCuO se utilizan en diversos campos, como aplicaciones biológicas, células solares, tintas de alta conductividad y otras aplicaciones específicas (Jardón-Maximino *et al.*, 2018).

Existen diferentes métodos sintéticos para obtener NPsCuO, por ejemplo, la reducción térmica y sonoquímica, síntesis de vapor metálico, irradiación con microondas, micelas inversas, proceso de poliol y reducción química en solución acuosa. El método más empleado para preparar NPsCuO nanométricas, es la reducción química de sales de Cu (II) en solución acuosa es la ruta más versátil esto debido a sus ventajas como es su simplicidad, solubilidad, tiempos de reacción cortos y reactivos económicos, además de permitir al mismo tiempo la posibilidad de controlar los tamaños y las formas de NPsCuO (Sierra-Ávila *et al.*, 2015).

2.7 Importancia del cobre

2.7.1 El cobre en plantas

El Cu es un microelemento esencial para el crecimiento y metabolismo normal de las plantas (Lira *et al.*, 2018). Actúa como un cofactor esencial para reacciones de oxidación y reducción que implican oxidasas que contienen cobre (Shams *et al.*, 2019). Las enzimas de Cu regulan diferentes vías fisiológicas, como el metabolismo del hierro, producción de energía, maduración del conjunto conjuntivo y neurotransmisión (Printz *et al.*, 2016).

El Cu desempeña un papel importante en distintos procesos fisiológicos, como cadenas de transporte de electrones fotosintéticas y respiratorias, fijación de nitrógeno, actividad antioxidante, metabolismo de proteínas, componente estructural y catalítico de proteínas y enzimas (Karimí *et al.*, 2012). Sin embargo, en concentraciones elevadas puede llegar a interrumpir el crecimiento de las plantas, el daño que causa a nivel molecular a la planta es a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres (Shams *et al.*, 2019).

Las funciones del Cu en plantas superiores están asociadas con la fotosíntesis, respiración mitocondrial, percepción del etileno, protección frente al estrés oxidativo, metabolismo de la pared celular, síntesis del cofactor de molibdeno y regulación del ciclo circadiano. Las principales proteínas de Cu son la plastocianina (PC), citocromo c oxidasa (COX) y la cuprozinc superóxido dismutasa (Cu/ZnSOD) (Angelova *et al.*, 2011).

El Cu también forma parte del cofactor del receptor de etileno ETR1 (Ethylene Receptor 1), polifenol oxidasas (PPO), amino oxidasas, lacasas y plantacianina (García-Molina *et al.*, 2013).

2.7.2 Exceso y deficiencia de cobre en plantas

La concentración de Cu en suelo presenta una amplia variación, encontrándose en concentraciones de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ en países como Croacia, Bélgica y Grecia y valores superiores de $100 \mu\text{g g}^{-1}$ en Italia, España y Noruega, además el Cu se encuentra totalmente disponible para su absorción por las plantas, debido a que puede estar formando complejos insolubles con la materia orgánica, con arcillas o con aniones como CO_3^{2-} y S^{2-} . Las plantas realizan sus funciones de forma normal con concentraciones de Cu de $5\text{-}30 \text{ mg kg}^{-1}$ tejido en peso seco (Orcutt y Nilsen, 2000).

El exceso de Cu en las plantas puede producir una reducción en la biomasa de la parte aérea y radicular, clorosis, necrosis (Bouazizi *et al.*, 2010), disminución de viabilidad de las células de la raíz, cambios en la deposición de lignina e inhibición de la germinación (Lequeux *et al.*, 2010), además afecta la actividad fotosintética, daños en el ADN, proteínas, afecta la adquisición de nutrientes y favorece la producción de ROS y estrés oxidativo (Ravet y Pilon, 2013).

La deficiencia de Cu en las plantas afecta principalmente a los tejidos jóvenes y reproductivos, las plantas sufren una reducción en el crecimiento, clorosis en hojas jóvenes, curvatura en márgenes de hojas, disminución en la formación de frutos, daños en meristemos apicales, defectos en la pared celular, disminución del desarrollo, desarrollo embrionario incorrecto y disminución de viabilidad del polen (Burkhead *et al.*, 2003),

2.7.3 El cobre en el cuerpo humano

El Cu es un oligoelemento esencial para la salud humana, es necesario para el crecimiento adecuado, integridad cardiovascular, elasticidad pulmonar, función endocrina y para el metabolismo del hierro.

El Cu es un elemento traza esencial para humanos y animales, en el cuerpo se desplaza en forma cuproso (Cu^+) y cúprico (Cu^{2+}), sin embargo, la mayoría del cobre se encuentra en forma (Cu^{2+}), debido a la habilidad del Cu en donar y aceptar electrones es importante en las reacciones oxidación y reducción y en la actividad de barrido de radicales libres (Oregón, 2020).

Cuadro 2.2. Ingesta diaria de cobre recomendada en personas.

Ingesta diaria recomendada en Cobre			
Etapas de vida	Edad	Hombre ($\mu\text{g}/\text{día}$)	Mujer ($\mu\text{g}/\text{día}$)
Infantes	0 – 6 meses	200	200
Infantes	7 – 12 meses	220	220
Niños	1 – 3 años	340	340
Niños	4 – 8 años	440	440
Niños	9 – 13 años	700	700
Adolescentes	14 – 18 años	890	890
Adultos	19 y más años	900	900
Embarazo	Todas las edades	---	1,000
Periodo de lactancia	Todas las edades	---	1,300

Fuente: Oregón (2020).

Las deficiencias de Cu son relativamente raras en los seres humanos, sin embargo, se han relacionado con el retraso mental, anemia, hipertrofia cardiaca, deterioro del sistema nervioso central, fragilidad ósea, tejido conectivo débil, síndrome de Menkes, enfermedad de Wilson, enfermedades cardiovasculares y estrés oxidativo (Blockhuys y Wittung, 2017).

2.7.4 Fuentes naturales de cobre

El Cu se puede encontrar en diferentes alimentos, como en carnes, cereales integrales, frutas secas, frutos de mar, cacao y legumbres.

Cuadro 2.3. Fuentes naturales de cobre.

Alimentos	Porción (g)	Cobre (µg)
Semillas de sésamo	1 taza (144)	5868
Nueces	1 taza (140)	3040
Frijoles rojos	1 taza (185)	1840
Garbanzos	1 taza (200)	1694
Cacahuates	1 taza (145)	1625
Almendras (tostadas)	1 taza (150)	1500
Quínoa	1 taza (170)	1000
Lentejas	1 taza (170)	996
Champiñones	1 taza (160)	786
Puré de tomate	1 taza (250)	718
Aguacate	1 taza (230)	715
Papa	1 unidad (200)	675
Espinaca (cocida)	1 taza (180)	313
Cereales (All-Bran)	½ taza (30)	322
Pasta seca	1 taza (100)	303
Arroz (cocido)	1 taza (205)	148

Dátiles	1 ½ taza (70)	150
Kiwi	½ taza (90)	135

Fuente: Licata (2019)

2.8 Fertilización foliar

La fertilización foliar es una herramienta importante para un manejo sostenible y productivo de los cultivos, además de gran importancia comercial alrededor del mundo, con esta técnica se puede corregir la deficiencia de micronutrientes, que son importantes para aumentar el rendimiento en los cultivos (Niu *et al.*, 2020; Fageria *et al.*, 2009).

La fertilización foliar puede complementar la fertilización del suelo, aumentando el contenido de oligoelementos y el rendimiento de los cultivos, una de las ventajas de la fertilización foliar es que se puede mezclar con herbicidas, insecticidas o fungicidas de postemergencia, por lo que se puede reducir el costo de aplicación (Kannan, 2010).

Para una correcta absorción foliar es importante conocer las propiedades físico-químicas de la formulación, como el pH, la solubilidad, la tensión superficial, la retención, solubilidad, concentración y el tamaño molecular, además de los factores ambientales como temperatura, humedad relativa y la luz, finalmente el estado fisiológico de la planta y las características de la especie (Fernández y Brown, 2013).

2.8.1 Mecanismos de absorción foliar

Los mecanismos de absorción foliar se basan predominantemente en la difusión pasiva de iones disueltos en una matriz acuosa, los cuales son absorbidos a través de la superficie foliar, donde la cutícula que es la que protege los órganos de las plantas contra los factores bióticos y abióticos, además de ser crucial para minimizar la pérdida de agua (Fernández y Brown, 2013).

Las NPs aplicadas foliarmente ingresan principalmente a las hojas a través de las estomas, ya que la absorción a través de la epidermis es muy limitada debido al tamaño pequeño del poro (20 nm) y se transportan a diferentes partes de la planta a través de vías apoplásticas y simplásticas, es decir partículas grandes (50 –200 nm) se transportan principalmente a través del apoplasto, mientras que las partículas pequeñas (10–50 nm) se transportan mediante el simplasto (Hong *et al.*, 2021). Generalmente las hojas jóvenes poseen mayor capacidad de absorber nutrientes en comparación con hojas maduras.

Las células eucariotas utilizan proteínas de la familia de transportadores de Cu (CTR), para transportar iones de Cu al citosol, los transportadores del tipo CTR se definen COPT, existen 6 miembros de esta familia (Pilon, 2011).

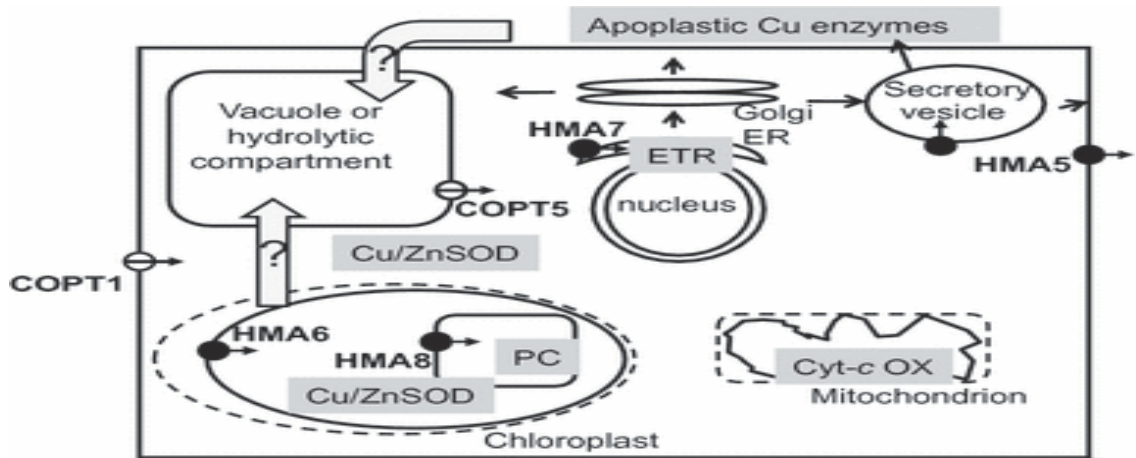


Figura 2.6. Sistemas de transporte del Cu en las plantas (Pilon, 2011)

2.9 Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos de los alimentos son constituyentes extra nutritivos que se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos. Los compuestos bioactivos tienen un impacto en las actividades fisiológicas o celulares de los seres humanos o animales que consumen tales compuestos. (Teodoro, 2019).

2.9.1 Fenoles

Los compuestos fenólicos en las plantas actúan como mecanismos de defensa contra el estrés ambiental y el ataque de organismos (Oliveira *et al.*,

2014). Los compuestos fenólicos presentes en los alimentos pueden llegar a reducir el riesgo de trastornos de salud, como reducir el riesgo a diversos cánceres, debido a su bioactividad y a sus propiedades antioxidantes (Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

Por otra parte, los beneficios en la salud humana están restringidos debido a su limitada solubilidad en agua, baja absorción, flujo restringido de células pasivas y una mala estabilidad gastrointestinal (Ahmed *et al.*, 2019).

2.9.2 Flavonoides

Los flavonoides son metabolitos secundarios polifenólicos, participan en diversas actividades biológicas en plantas y benefician a la salud humana como agentes dietéticos protectores (Khalid *et al.*, 2019). Los flavonoides son importantes en la salud humana ya que presentan actividades antioxidantes, antibacterianas, antivirales y antiinflamatorias, además protegen al cuerpo humano contra los radicales libres asociados al desarrollo de cáncer y aterosclerosis (Ruiz-Cruz *et al.*, 2017).

Los flavonoides están presentes en los alimentos como en las frutas, verduras y té. Además, se han utilizado en la industria alimentaria, debido a su capacidad para conservar alimentos, aportar sabor y color, así como para elaborar suplementos dietéticos (Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

2.9.3 Capacidad antioxidante

En la actualidad la demanda de alimentos ricos en antioxidantes va en aumento, debido a su papel en la prevención de enfermedades degenerativas (Soccio *et al*, 2018). Los antioxidantes naturales están distribuidos en diversos alimentos y plantas medicinales (Xu *et al.*, 2017).

Los antioxidantes son esenciales para un correcto funcionamiento y adaptación de las plantas, además de brindar diversas propiedades beneficiosas para la salud humana (Maury *et al.*, 2020). Los antioxidantes naturales tienen la capacidad de eliminar los radicales libres, además de su acción antiinflamatoria, anti-envejecimiento y anti-cáncer (Li *et al*, 2015).

2.10 Actividad enzimática

El Cu promueve la generación de especies reactivas de oxígeno, en forma enzimática y no enzimática (reacción de Fenton). Entre los mecanismos bioquímicos de defensa que se inducen en respuesta al daño oxidativo causado por Cu, está el incremento en las actividades de enzimas antioxidantes tales como

catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa, ascorbato y guaiacol peroxidasas (Morales y Giménez, 2012).

2.10.1 Peroxidasas

Las peroxidasas representan una familia de isoenzimas que participan activamente en la oxidación de especies reactivas de oxígeno (ROS), la inmunidad innata, patogénesis de varias enfermedades y en la biosíntesis de hormonas (Khan *et al.*, 2014). Es una de las enzimas clave, están ampliamente distribuidas en la naturaleza y catalizan la oxidación de diferentes sustratos de electrones concomitantes con la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) además están involucrados en distintos procesos fisiológicos esenciales del crecimiento y desarrollo de las plantas durante su ciclo de vida (Pandey *et al.*, 2017).

2.10.2 Catalasa

La catalasa es una enzima antioxidante presente en todos los organismos aerobios, se encuentra en todos los sitios principales de producción de peróxido de hidrogeno ($H_2 O_2$) en el entorno celular como son mitocondrias, peroxisomas,

citosol y cloroplasto de las plantas superiores (Sharma y Ahmad, 2014). La catalasa actúa en la prevención de la formación de concentraciones excesivas de H_2O_2 y utilizando el H_2O_2 en oxidación peroxidativa de compuestos como el metanol y ácido fórmico. La actividad de la catalasa ayuda la regulación genética en plantas estresadas por la sequía y sal (Sofo *et al.*, 2015).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del experimento

El experimento se estableció en el ciclo agrícola otoño – invierno, del año 2020-2021, durante los meses de noviembre a enero, bajo condiciones de agricultura protegida en malla sombra, ubicada en el Instituto Tecnológico de Torreón (ITT), ubicada en el Km. 7.5 de la antigua carretera Torreón - San Pedro, municipio de Torreón, Coahuila, México. Localizada geográficamente entre las coordenadas 25°36'37" Norte y 103°22'33" Oeste, a una altitud de 1150 msnm.



Figura 3.1. Localización del sitio experimental.

3.2 Condiciones de la malla sombra

La malla sombra es de estructura metálica, con una altura de 6 m, un área de 150 m², cubierta con malla antiáfidos de color blanco, permitiendo la entrada de luz de manera uniforme. Debido a los fuertes vientos que se presentaron durante el experimento se colocó una barrera con plástico transparente, para contrarrestar las fuertes ráfagas de viento y así evitar que las plantas se dañaran y se cubrieran de tierra.

La temperatura promedio dentro de la malla sombra en la mañana fue de 20 y 24 °C, mientras que en la noche de 4 a 10 °C, la humedad relativa fue de 40% a 70%.

3.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con seis tratamientos y cinco repeticiones, con un total de 30 unidades experimentales (cada planta fue considerada como unidad experimental).

Cuadro 3.1. Tratamientos aplicados en el experimento.

Tratamiento	Concentración de NPsCuO
T1	Control
T2	5 mg L ⁻¹
T3	10 mg L ⁻¹
T4	15 mg L ⁻¹
T5	20 mg L ⁻¹
T6	25 mg L ⁻¹

3.4 Material vegetal

El material vegetal utilizado en el experimento fue plantas de lechuga orejona, de la empresa Rancho Los Molinos. Fueron sembradas el 22 de octubre del 2020, en semilleros de foami agrícola (espuma fenólica) de 100 cavidades por placa desprendibles, la germinación ocurrió a los cuatro días después de la siembra.

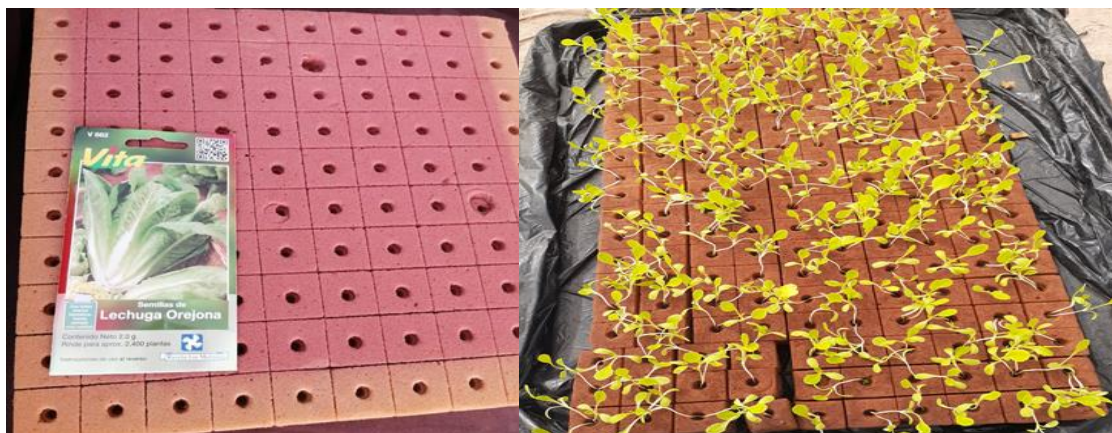


Figura 3.2. Plántulas de lechuga en semillero de foami agrícola (espuma agrícola).

3.5 Trasplante

El trasplante se realizó a los 23 días después de la germinación de la semilla, cuando las plántulas alcanzaron alrededor de seis a siete hojas verdaderas, colocando una plántula en el centro de cada orificio del tubo de PVC hidráulico de cuatro pulgadas de diámetro.

El sistema hidropónico (NFT) se construyó con tubos de PVC hidráulico de cuatro pulgadas de diámetro y seis metros de largo, con una pendiente del 10% y con un esparcimiento entre cavidades de 25 cm. Para el sistema de bombeo se empleó tubos de $\frac{3}{4}$ de pulgada, válvulas, codos, y tubos como emisores a los canales para regar las plantas y una bomba periférica de $\frac{1}{2}$ caballo de fuerza de la marca Truper BOAP-1/2A2.



Figura 3.3. Trasplante de plántulas de lechuga al sistema hidropónico (NFT).

3.6 Nutrición del cultivo

Se utilizó solución nutritiva (SN) universal (Steiner, 1984), se preparó con fertilizantes que se encuentran dentro de la región de la comarca lagunera; Nitrato de magnesio ($\text{NO}_3= 12\%$, $\text{Mg}= 14.8\%$, $\text{Ca}= 1.24\%$) Sulfato de potasio ultrasoluble ($\text{K}_2\text{O}= 51\%$, $\text{SO}_4= 56\%$), Nitrato de calcio ($\text{N}=15.5\%$, $\text{CaO}= 26\%$), Nitrato de potasio NKS ($\text{NO}_3= 12.66\%$, $\text{K}=46.30\%$, $\text{S}= 3.05\%$), Fosfato monopotásico MKP ($\text{P}_2\text{O}_5= 52.23\%$, $\text{K}_2\text{O}= 34.08\%$) y un mix de micronutrientes de nombre comercial Librel Mix-AL ($\text{Fe}= 7.5\%$, $\text{Mn}= 4.0\%$, $\text{Zn}= 0.5\%$, $\text{Cu}= 0.3$, $\text{B}= 0.5$, $\text{Mo}= 0.25$ comercial).

Cuadro 3.2. Fertilizantes utilizados para preparar la solución nutritiva (100%), para 200 L de solución.

Fertilizantes	Cantidad de fertilizantes (g)
MKP	26.22
Mg NO ₃	104.05
K ₂ SO ₄	68.25
NKS	49.33
CaNO ₃	100.59
Micros	5.34

La concentración de la SN vario de acuerdo a la etapa fenológica del cultivo. La SN se mantuvo en un rango de conductividad eléctrica (CE) de 2.0 dS m⁻¹ y un pH de 5.5 a 6.0.

Cuadro 3.3. Concentración de la solución nutritiva utilizada en el experimento.

Días después del trasplante	Concentración de la solución nutritiva
23 – 30	40%
31 – 41	60%
42 – 51	80%
52 – 67	100%

3.7 Generalidades de las nanopartículas de óxido de cobre

Las NPsCuO utilizadas en el experimento fueron proporcionadas por la Dra. Rebeca Betancourt Galindo del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Saltillo Coahuila, México.

Cuadro 3.4. Características de las NPsCuO aplicadas en el experimento.

Características	NPsCuO
Origen	Dra. Rebeca Betancourt Galindo (CIQA)
Síntesis	Química
Pureza	98%
Tamaño	20 - 60 nm
Estructura	Esférica

3.8 Aplicación foliar de nanopartículas de óxido de cobre

La aplicación de las NPsCuO se realizó vía foliar con atomizadores de 1L, para cada tratamiento se utilizó un atomizador. Para una correcta aplicación de las NPsCuO se añadió un surfactante penetrante (Inex-A) de la marca Cosmocel, además para evitar la contaminación entre tratamientos se cubrieron las plantas con una caja de cartón. Se realizaron cinco aplicaciones de NPsCuO durante el ciclo del cultivo, la primera aplicación fue a los siete ddt, luego fue a intervalos de 15 días hasta la cosecha de las plantas de lechuga.



Figura 3.4. Aplicación foliar de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO).

3.9 Labores culturales

A los 10 días después del trasplante se realizó el aclareo de las plantas de lechuga, dejando solo una planta por cada cavidad, esto para evitar la competencia entre las plantas por el espacio y así evitar la deformación de las lechugas.

3.10 Plagas y enfermedades

Para el manejo integrado de plagas, se aplicó jabón potásico a una dosis de 20 gramos de jabón potásico por cada litro de agua, realizando aplicaciones cada 15 días, esto con la finalidad de prevenir la aparición de pulgón (*Myzus*

persicae), mosca blanca (*Bemisia tabaci*), trips (*Frankliniella occidentalis*) y araña roja (*Tetranychus urticae*).

3.11 Variables agronómicas evaluadas

La cosecha de las plantas de lechuga se realizó a los 67 ddt, el corte se realizó por la mañana, cada lechuga fue correctamente etiquetada y guardada en bolsas de papel.



Figura 3.5. Cosecha de las plantas de lechuga.

3.11.1 Altura de planta

Los datos de altura de planta fueron tomados a los 67 ddt. Se utilizó una regla métrica de 60 cm, la altura se tomó desde la base del tubo de PVC hasta el

ápice de la hoja más desarrollada. Los datos referidos fueron registrados en centímetros (cm).

3.11.2 Número de hojas

El número de hojas se realizó a los 67 ddt, El conteo se realizó partiendo del punto de crecimiento hasta llegar a la última hoja desarrollada, tratando siempre de evitar dañar las hojas y mover lo menos posible las plantas, ya que las lechugas son muy frágiles. El número de hojas total se realizó al final de la cosecha, se separó hoja por hoja, para tener un mejor conteo.

3.11.3 Diámetro de corona

El diámetro de corona se realizó en todas las lechugas cosechadas, utilizando una regla métrica de 60 cm. Los datos referidos fueron expresados en cm.

3.11.4 Ancho y largo de hoja

Para altura y ancho de hoja, se tomaron dos hojas de la parte central de lechuga como referencia, se midieron con una regla métrica de 60 cm, los datos referidos fueron expresados en cm.

3.11.5 Peso fresco de raíz

Las raíces de las plantas fueron sacadas cuidadosamente del tubo de PVC, tratando de no romperlas, después se procedió a pesar en una báscula digital de cinco kg, los datos referidos fueron expresados en gramos (g).

3.11.6 Clorofila

El contenido de clorofila se realizó por las técnicas de Nagata y Yamashita (1992). Se pesaron 10 mg de tejido liofilizado, se agregaron 2 mL de Hexano: Acetona (3:2) y se mezcló en el vortex. Se tomó una alícuota y se midió la absorbancia a 645 y 663 nm en un espectrofotómetro UV-VIS modelo UV-6300PC.

3.12 Variables de rendimiento

3.12.1 Peso fresco

El corte se realizó desde la base de la planta, separando las hojas de la raíz para poder determinar los pesos, la cosecha se realizó por la mañana. Para el peso fresco se utilizó una báscula digital con capacidad de cinco kg, los resultados referidos fueron expresados en g.

3.12.2 Peso seco

Las hojas fueron puestas a secar durante seis días a temperatura ambiente y bajo la sombra, posteriormente se colocaron en bolsas de papel y colocaron al horno de secado a una temperatura de 75 °C, durante 48 horas para alcanzar el peso constante. Los datos referidos fueron expresados en g.

3.13 Liofilización de muestras

Las hojas fueron enviadas en bolsas plásticas (Ziploc), a la Universidad Politécnica de Gómez Palacio, para ser liofilizadas (modelo TF100F). La liofilización es el proceso de conservación mediante sublimación utilizado para reducir las pérdidas de componentes volátiles o termo-sensibles.

3.14 Variables de calidad nutracéutica

El análisis de laboratorio de compuestos fenólicos de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante fueron realizados en el laboratorio de Agroecología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna.

3.14.1 Fenoles

El contenido fenólico se determinó utilizando una modificación del método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). 30 μ L de extracto se mezclaron con 270 μ L de agua destilada en un tubo de ensayo, luego se añadió 1.5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St Louis MO, EE.UU.) diluido (1:15) y se agito con vortex durante 10 s. Luego de 5 min se añadió 1.2 mL de carbonato de sodio (7.5% w/v) y se agito durante 10 s. La solución se colocó en baño de agua durante 15 min y posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente. La absorción de la solución se leyó a 765 nm en espectrofotómetro UV (Genesys 10). Para calcular el contenido fenólico se realizó una curva patrón utilizando ácido gálico como estándar, los resultados se registraron en mg de equivalente de ácido gálico por 100 g en base a peso fresco (mg Ac. Gálico 100 g⁻¹ PF). Los análisis se realizaron por triplicado.

3.14.2 Flavonoides

El contenido de flavonoides se utilizó la técnica descrita por Lamaison y Carnet (1990), tomando una alícuota de 250 μL del sobrenadante del extracto etanolico para luego agregar 1.25 mL de agua destilada y 75 μL de NaNO_2 al 5% agitando la mezcla en el vortex y dejando reaccionar por 5 min. Después se agregó 150 μL $\text{AlCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ al 10% agitando la mezcla en el vortex, dejándolo reaccionar por 6 min. Posteriormente se agregaron 500 μL NaOH 1 M y 275 μL agua, agitando en vortex. La absorción se leyó en espectrofotómetro UV (Genesys 10) a una longitud de onda de 510 nm. Para la cuantificación de la concentración se realizó la curva patrón ($y = 0.0122x - 0.0067$; $r^2 = 0.9653$) preparada con quercetina. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de quercetina (QE) por 100 g en base al peso fresco ($\text{mg QE } 100 \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). Los análisis se realizaron por triplicado.

3.14.3 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó con el método in vitro DPPH^+ (Brand-Williams *et al.*, 1995). Se preparó una solución de DPPH^+ (Aldrich, St. Louis, Missouri, EU) en etanol, ajustando la absorbancia de la solución a $1,100 \pm 0,010$ a una longitud de onda de 515 nm. La determinación de la capacidad

antioxidante se realizó la mezcla de 50 μL de muestra y 1950 μL de solución DPPH⁺ y luego de 30 min de reacción se leyó la absorbancia de la mezcla a 517 nm en espectrofotómetro UV (Genesys 10).

Las lecturas se tomaron por triplicado y se utilizó etanol como blanco. Se preparó la curva estándar con Trolox (Aldrich, St. Louis, Missouri, EE.UU.) y los resultados se reportaron como capacidad antioxidante equivalente en μM equivalente en Trolox por 100 g en base a peso fresco (mg equiv. Trolox 100 g⁻¹ PF).

3.15 Variables de actividad enzimática

Los análisis de laboratorio para la determinación de la actividad enzimática de peroxidasa y catalasa fueron realizados en la Universidad Politécnica de la Región Laguna.

3.15.1 Peroxidasa

Se empleó el método descrito por pascual *et al.* (1983) en el cual se utiliza como sustratos guayacol y peróxido de hidrogeno. Las condiciones del ensayo fueron: 1.0 ml Tris-(HCl) 0.01 mol L⁻¹, pH 7.0; 0.75 ml de guayacol 100 mmol. L⁻¹,

0.02 ml de H_2O_2 30 mmol. L^{-1} ; 0.1 ml de solución de enzima HRP; a temperatura ambiente. Las lecturas de absorbancia se realizaron en espectrofotómetro UV-VIS, a 470 nm, en cubetas de 1 cm de paso de luz cada 5 segundos durante 1 minuto a temperatura ambiente.

3.15.2 Catalasa

La actividad de la catalasa se evaluó a través del método descrito por Luck, citado por Blackwell *et al.* (1990) en el que 3 ml de 10 mM Tris-HCl (pH 8.5) y 0.1 ml de peróxido de hidrogeno 0.88% en 100 mM de Tris-HCl se colocaron en celdas de cuarzo. La reacción se inició adicionando 0.1 ml de extracto crudo y se observó el cambio en absorbancia a 240 nm y la actividad enzimática se reportó como U/g de PS, donde U= unidad de actividad enzimática y una unidad es igual a la descomposición de 1 $\mu\text{mol/min}$ de H_2O_2 . Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente.

3.16 Determinación de Cobre

La determinación de Cu se realizó en el Centro Nacional de investigación Disciplinaria en Relación, Agua, Suelo, Planta, Atmosfera (CENID-RASPA)

ubicado en la ciudad de Gómez Palacio, Durango, mediante espectrofotómetro de absorción atómica (AOAC, 1990), los resultados fueron expresados en $\mu\text{g kg}^{-1}$ peso seco (PS).

3.17 Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), en el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS, 2004).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Variables agronómicas

Los resultados de análisis de varianza para las variables tamaño de corona, largo de hoja y peso fresco de raíz, no presentaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$), por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en lechuga.

En la variable altura de planta no se presentó diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$), por el efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en lechuga. Este resultado es similar a lo reportado por Trujillo-Reyes *et al.* (2014) quienes indican que la aplicación foliar en concentraciones 10 y 20 mg L⁻¹ de NPsCuO en plántulas de lechuga reduce el crecimiento de la planta. Sin embargo, dicho incremento difiere a lo reportado por Zafar *et al.* (2020) quienes indican que las aplicaciones de NPsCuO (12.5, 25 y 50 mg L⁻¹) en el cultivo de mostaza negra (*Brassicca nigra*) incrementan la altura de planta. El incremento en el crecimiento de las plantas por efecto de las NPsCuO es debido a la inducción de la actividad en los cloroplastos, síntesis de enzimas antioxidantes y nitrato reductasa, dependiendo de la forma de las NPs, concentración, forma de aplicación, etapa de la aplicación y la especie vegetal (Nekrasova *et al.*, 2011).

Para la variable número de hojas el tratamiento con la dosis de 15 mg L⁻¹ reportó el mayor número de hojas con un valor de 50.80, siendo superior en 22.1%

con respecto al tratamiento control (Cuadro 4.1). El número de hojas registrado resultó ser superior al valor de 32 hojas reportado por Kohatsu *et al.* (2021), en plantas de lechuga provenientes de aplicaciones foliares de NPsCu con una concentración de 20 mg L⁻¹. La aplicación foliar a bajas concentraciones de 10 a 20 mg L⁻¹ NPsCuO promueven efectos en el incremento del número de hojas en el cultivo de *Allium cepa* y mejoran la resistencia de la planta (Mottaleb *et al.*, 2021). Sin embargo, la aplicación de altas concentraciones entre 100 y 1000 mg L⁻¹ de NPsCuO en el cultivo de *Lactuca sativa* L. var. disminuye el número de hojas y crecimiento, debido a una acumulación alta de Cu en la superficie de la hoja provocando toxicidad (Xiong *et al.*, 2021).

En la variable ancho de hoja el tratamiento con la dosis de 15 mg L⁻¹ mostro el mayor incremento con una media de 19.66 cm, resultando superior en 25.5% al tratamiento control (Cuadro 4.1). Este comportamiento es similar a lo reportado por Zafar *et al.* (2020) quienes indican que las aplicaciones de NPsCuO a concentraciones de 50 mg L⁻¹ en el cultivo de *Brassicca nigra* incrementan el ancho de la vaina.

Cuadro 4.1. Comparación de medias para variables agronómicas en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) producidas con aplicación foliar de NPsCuO.

NPsCuO mg L ⁻¹	NH --	AP --	TC (cm)	LH --	AH --	PFR (g)
Control	41.60± 1.51c	25.60± 2.70	40.60± 3.78	24.33± 0.57	15.66± 1.52b	201.33± 0.57
5	43.60± 1.94bc	30.40± 3.28	42.20± 1.82	25.33± 1.52	17.66± 1.15ab	202.33± 2.08
10	46.00± 2.54abc	29.40± 2.60	43.50± 2.17	24.66± 1.15	17.33± 0.57ab	203.33± 2.08
15	50.80± 1.92a	29.40± 1.08	43.90± 3.04	26.33± 0.57	19.66± 0.57a	205.33± 2.51
20	48.80± 4.81ab	30.00± 1.58	42.60± 1.67	25.66± 1.52	17.33± 1.15ab	202.66± 2.08
25	47.60± 2.88ab	28.90± 3.24	42.30± 2.10	26.00± 1.00	17.00± 1.00ab	203.00± 2.64

*Valores con letras iguales dentro de cada columna son similares estadísticamente (Tukey; $P \leq 0.05$). NS= no significativo, *= significativo, NH= número de hojas, AP= altura de planta, TC= tamaño de corona, LH= largo de hoja, AH= ancho de hoja, PFR= peso fresco de raíz. Los datos se muestran como medias (n= 30) ± desviación estándar.

Clorofila Total

Los resultados de análisis de varianza para la variable de clorofila presento diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$), por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en plantas de lechuga. Se destacaron las dosis de 10 y 15 mg L⁻¹ con una media de 9.994 y 9.888 mg 100 g⁻¹, siendo superior en un 40.0% y 38.5% en comparación al tratamiento testigo (Figura 4.1). Estos resultados coinciden a los reportado por Hernández- Hernández *et al.* (2019), quienes evaluaron la interacción de NPs de Se y Cu a una concentración de 1 mg L⁻¹ de

NPs de Se y 50 mg L⁻¹ de NPs Cu, encontrando un incremento en el contenido de clorofila a (20%), b (17%) y total (19%). Por otra parte, Badawy *et al.* (2021) evaluó la aplicación de NPs CuO con una concentración de 50 mg L⁻¹ en plantas de *Triticum aestivum* L. reportando un incremento la clorofila en 23% y 10.5%.

Este hallazgo puede estar relacionado a que el Cu es un componente de los cloroplastos y participa en la síntesis de clorofila, proteínas y polifenoloxidasas y juega un papel importante en el transporte de electrón fotosintético (Mykhaylenko y Zolotareva, 2017).

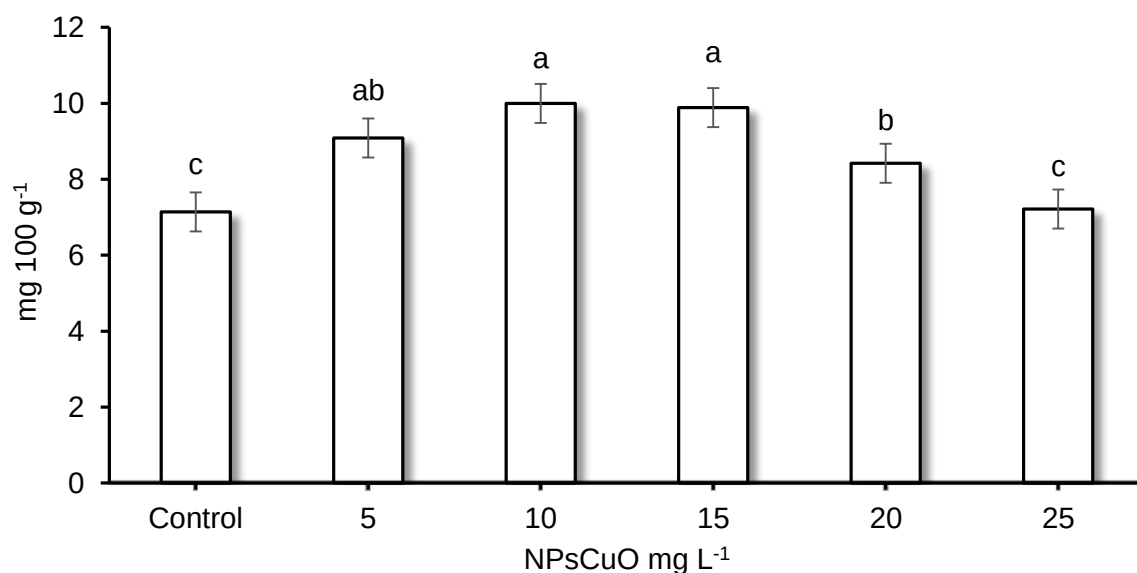


Figura 4.1. Efecto de la aplicación foliar de NPs CuO en el contenido total de clorofila en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT. Los datos se muestran como medias ($n = 30$) $\pm$ desviación estándar. Barras con letras distintas son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba Tukey ($P \leq 0.05$).

4.2 Variables de rendimiento

4.2.1 Peso fresco y seco

Los resultados de análisis de varianza para la variable peso fresco y peso seco no presentaron diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$), por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en lechuga hidropónica, sin embargo, el rendimiento no se vio afectado por fitotoxicidad de las NPsCuO en las plantas (Figura 4.2). Estos resultados son similares con lo reportado por Esparza-Rivera *et al.* (2014) quienes realizaron un bioensayo en plántulas de tomate, aplicando dos concentraciones de NPsCu 2000 mg L⁻¹, donde no encontraron diferencias estadísticas en las variables del peso seco y fresco. Sin embargo, altas concentraciones de NPsCuO pueden provocar problemas de toxicidad a nivel morfológico, fisiológico, bioquímico y rendimiento (Adress *et al.*, 2015).

Cuadro 4.2. Comparación de medias de las variables peso fresco (PF) y peso seco (PS) en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) producidas con aplicación foliar de NPsCuO.

NPsCuO mg L ⁻¹	PF	PS (g)
Control	808.33 ± 3.51	48.80 ± 1.24
5	810.66 ± 2.08	48.93 ± 1.45
10	811.66 ± 3.51	50.33 ± 0.94
15	814.00 ± 2.00	51.03 ± 1.00
20	811.33 ± 3.51	50.33 ± 0.57
25	811.33 ± 3.51	50.13 ± 0.80

*Valores con letras iguales dentro de cada columna son similares estadísticamente (Tukey; $P \leq 0.05$). NS = no significativo. Los datos se muestran como medias (n= 30) ± desviación estándar.

4.3 Calidad nutracéutica

4.3.1 Fenoles

Los resultados de análisis de varianza para la variable de fenoles presento diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$), por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en lechuga. Los mayores valores se registraron con las dosis de 10 y 15 mg L⁻¹, con medias de 323.41 y 325.00 mg Ac. Galico 100 g⁻¹ PF, este valor supera en 38.4 y 34.2% a los valores registrados en el tratamiento control (Figura 4.2).

Por lo anterior, la aplicación foliar de concentración de 10 y 15 mg L⁻¹ promueven un efecto positivo, comportamiento que coincide con lo establecido por López-Vargas *et al.* (2019), quienes realizaron aplicaciones foliares de NPsCuO a concentraciones de 250 mg L⁻¹ en el cultivo de *Solanum lycopersicum* L. y obtuvieron frutos de mejor calidad para la dieta humana, debido a la acumulación de compuestos bioactivos y la respuesta observada puede estar relacionada con la formación de ROS (Especies Reactivas de Oxígeno) debido a las NPsCuO.

En cuanto al incremento de fenoles se debe a que el elemento Cu, estimula los mecanismos antioxidantes de la planta, es una estrategia factible para manejar y / o mitigar daño causado por el estrés salino en tomates (Pérez-Labrada *et al.*, 2019). Así como también juegan un papel importante en el cultivo, ya que protegen al fruto de daños causados por insectos, microorganismos y mejoran la calidad de color y apariencia de los frutos (Mallek-Ayadi *et al.*, 2019).

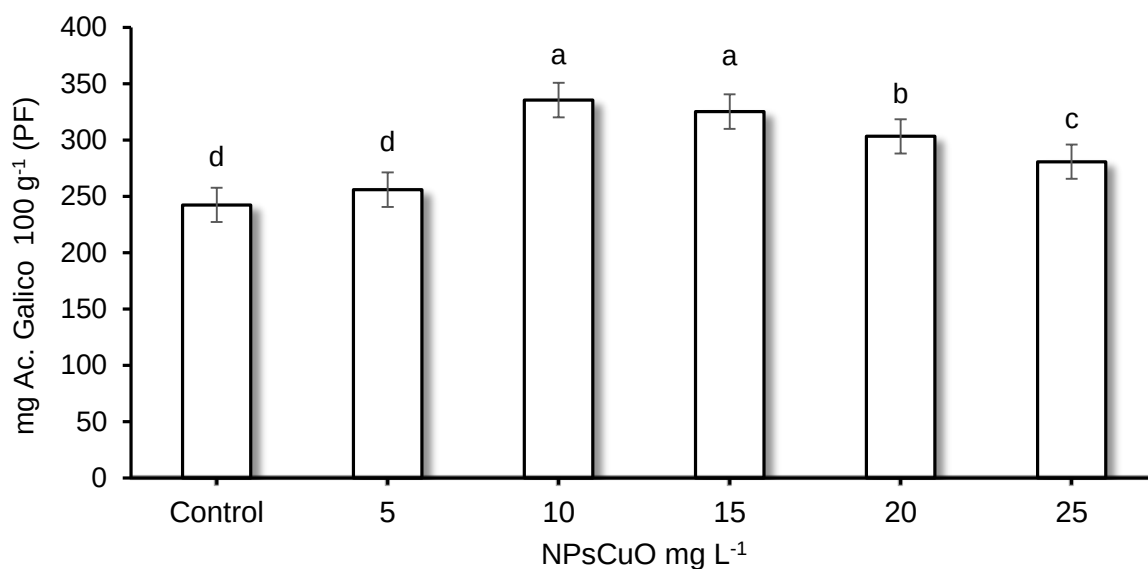


Figura 4.2. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en el contenido de fenoles en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT. Los datos se muestran como medias ($n=30$) $\pm$ desviación estándar. Barras con letras distintas son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba Tukey ($P \leq 0.05$).

4.3.2 Flavonoides

Los resultados de análisis de varianza para la variable de flavonoides presento diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$), por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en lechuga. La mayor concentración de fenoles se obtuvo con las dosis de 10 y 15 mg L⁻¹ con medias de 193.92 y 189.70 mg QE 100 g⁻¹ (PF), este valor supera en 34.2 y 31.1% con respecto al tratamiento control (Figura 4.3). Estos resultados obtenidos concuerdan con lo Pelegrino *et al.* (2021) en su

investigación de aplicación por aspersión foliar de nanopartículas de CuO NP y S nitrosoglutatión en la mejora de la productividad, fisiológicos y bioquímicos en la planta de lechuga en la cual reporta incrementos en el contenido de flavonoides mismos que mejoran la calidad nutricional de las hojas de lechuga. por otra parte, resultados similares se han reportado en plantas de chile jalapeño, donde se muestran que al realizar aplicaciones de Cu NPs + Chitosan-PVA se incrementa el contenido de flavonoides en un 13% (Pinedo-Guerrero *et al.*, 2017).

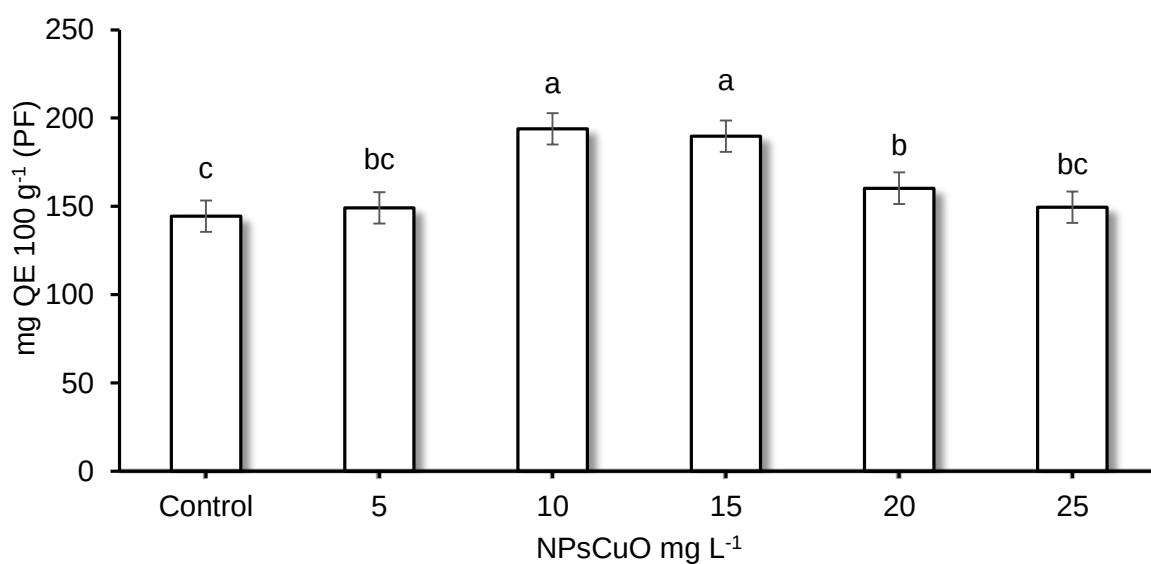


Figura 4.3. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en el contenido de flavonoides en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT. Los datos se muestran como medias ($n=30$) $\pm$ desviación estándar. Barras con letras distintas son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba Tukey ($P \leq 0.05$).

4.3.3 Capacidad antioxidante

De acuerdo al análisis de varianza para la variable capacidad antioxidante presento diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$), por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO. La mayor concentración de capacidad antioxidante se obtuvo con las dosis de 10 y 15 mg L⁻¹, con una media de 106.43 y 101.07 mg equiv. Trolox 100 g⁻¹ (PF) superando en 28.2 y 21.8% respectivamente al tratamiento control. Estos resultados coinciden a los reportado por Hernández- Hernández *et al.* (2019) quienes evaluaron NPsCu y observaron un incremento de la actividad enzimática (Capacidad antioxidante) en frutos de tomate (Figura 4.4). Así mismo al evaluar dos aplicaciones foliares de NPsCuO en dosis de 25 (mg L⁻¹) en el cultivo de *Moringa oleífera* aumenta la capacidad antioxidante, debido a que la aplicación de NPsCuO pueden generar un poco de estrés en la planta, lo que resulta un incremento de ROS, que a su vez activa el mecanismo de defensa antioxidante que como resultado la producción de una serie de compuestos antioxidantes enzimático (Juárez-Maldonado *et al.*, 2018).

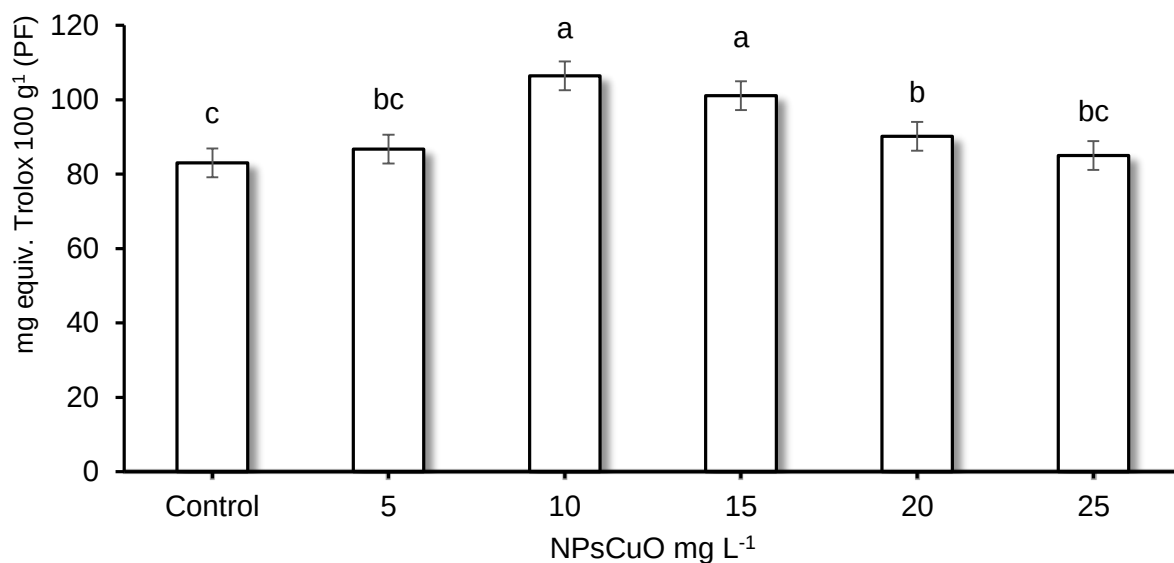


Figura 4.4. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en la capacidad antioxidante en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT. Los datos se muestran como medias ($n = 30$) $\pm$ desviación estándar. Barras con letras distintas son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba Tukey ($P \leq 0.05$).

4.4 Actividad enzimática

4.4.1 Enzima Peroxidasa y Catalasa.

Los resultados de análisis de varianza para la variable de enzima peroxidasa presento diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$), por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en lechuga. La mayor concentración de la enzima

peroxidasa se obtuvo con la dosis de 15 mg L⁻¹ con una media de 1.079 U mL⁻¹, este valor supera en 33.4% con respecto al tratamiento control (Cuadro 4.3). Datos similares reportan Nair y Chung (2014) al aplicar NPsCuO en plántulas de *Glycine max* L. con la concentración de 100, 200, 400 y 500 mg L⁻¹ de NPsCuO, encontrando un aumento en nivel de peróxido de hidrogeno y en la actividad de la enzima peroxidasa. Las peroxidases representan una familia de isoenzimas que participan activamente en la oxidación de ROS (Khan *et al.*, 2014).

En la variable catalasa no se presentó diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$), por efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en lechuga. Efectos que coinciden con lo reportado por Hernández- Hernández *et al.* (2019), quienes al evaluar diferentes interacciones de concentraciones de NPs de Se y Cu (1 y 10, 10 y 50, 20 y 250 mg L⁻¹) en el cultivo de *Solanum lycopersicum* L. no observaron diferencia en la enzima catalasa. Los resultados son consistentes con el trabajo realizado por Hong *et al.* (2015) en el cultivo de lechuga donde evaluaron aplicación de NPsCuO quienes tampoco no encontraron aumento en las concentraciones de la enzima catalasa.

Cuadro 4.3. Comparación de medias de la actividad enzimática de peroxidasa y catalasa en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) producidas con aplicación foliar de NPsCuO.

NPsCuO mg L⁻¹	Peroxidasa (U mL⁻¹)	Catalasa
Control	0.809 ± 0.169b*	0.931 ± 0.145 ^{NS}
5	0.913 ± 0.052ab	0.998 ± 0.126
10	0.918 ± 0.056ab	1.013 ± 0.091
15	1.079 ± 0.142a	1.015 ± 0.025
20	0.814 ± 0.016b	0.984 ± 0.093
25	0.801 ± 0.013b	0.924 ± 0.031

*Valores con letras iguales dentro de cada columna son similares estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$). NS = no significativa. Los datos se muestran como medias (n= 30) ± desviación estándar.

4.5 Cobre

Los resultados indican que la aplicación foliar de NPsCuO en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT, las dosis utilizadas no afectó significativamente el contenido de Cu (Figura 4.5). Obteniéndose el mayor contenido Cobre en lechugas tratadas con 25 mg L⁻¹, con una media de 9.60 µg kg⁻¹ PS superando al resto de los tratamientos. Estos resultados pueden atribuirse que las concentraciones de Cu utilizadas en esta investigación están en pequeñas concentraciones por lo cual no se encontró contenidos de cobre en las hojas, Estos resultados difieren a lo reportado por Xiong *et al.* (2021) en su investigación

Absorción foliar, biotransformación e impacto de NPsCuO en *Lactuca sativa* L. var. Ramosa, en los cuales ellos reportaron un incremento del contenido de cobre en las hojas y la raíz de la planta con la aplicación foliar de las concentraciones 100 y 1000 mg L⁻¹ los cuales pueden ser tóxicos para el consumo humano. Así mismo Wang *et al.* (2019) han reportado que las concentraciones arriba de 200 a 400 mg kg⁻¹ respectivamente incrementan la acumulación de Cu en las raíces los cuales pueden ser tóxicos al encontrarse restos en brotes y hojas, una alta concentración de Cu puede causar un tipo de estrés en la planta y afectar sus procesos fisiológicos.

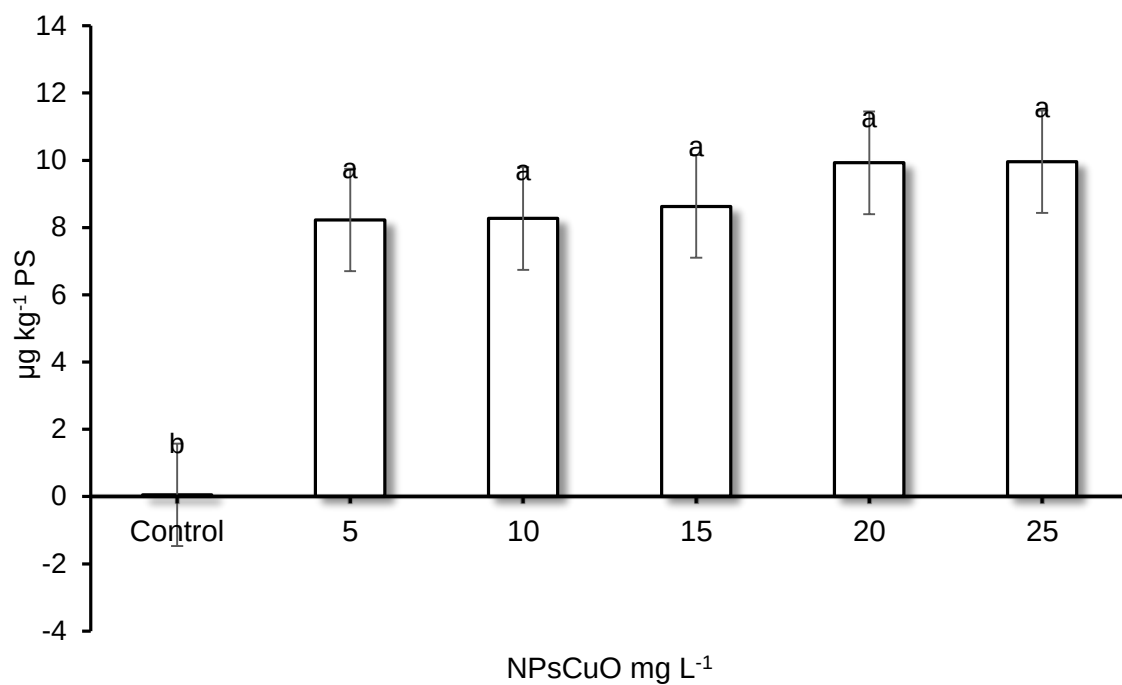


Figura 4.5. Efecto de la aplicación foliar de NPsCuO en el contenido de Cu en plantas de lechuga producidas en un sistema NFT. Los datos se muestran como medias ($n=30$) $\pm$ desviación estándar. Barras con letras distintas son estadísticamente diferentes de acuerdo a la prueba Tukey ($P \leq 0.05$).

V. CONCLUSIONES

La aplicación foliar de NPsCuO no afectó el rendimiento en el cultivo, sin embargo, aumentó la calidad nutracéutica en las lechugas. La dosis de 15 mg L^{-1} de NPsCuO mejoró el contenido de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en plantas de lechuga producidas en el sistema NFT. La dosis de 15 mg L^{-1} de NPsCuO mejoró la actividad enzimática de la enzima peroxidasa. El uso de 25 mg L^{-1} favoreció la bioacumulación de Cu en las hojas de lechuga. La aplicación foliar de NPsCuO podría ser una alternativa para incrementar la calidad nutracéutica en plantas de lechuga producidas en el sistema hidropónico NFT.

VI. LITERATURA CITADA

- Ahmed, R., Tariq, M., Ahmad, I. S., Fouly, H., Hasan, A., and Kushad, M. (2019). Poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles loaded with *Callistemon citrinus* phenolics exhibited anticancer properties against three breast cancer cell lines. *Journal of Food Quality*. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/2638481>.
- Angelova, M., Asenova, S., Nedkova, V., and Koleva-Kolarova, R. (2011). Copper in the human organism. *Trakia Journal of Sciences*. 9(1): 88-98.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1990). *Official Methods of Analysis*, 15th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA.
- Badawy, A. A., Abdelfattah, N. A., Salem, S. S., Awad, M. F., and Fouda, A. (2021). Efficacy assessment of biosynthesized copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) on stored grain insects and their impacts on morphological and physiological traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) plant. *Biology*. 10(3): 233. <https://doi.org/10.3390/biology10030233>.
- Baslam, M., Morales, F., Garmendia, I., and Goicoechea, N. (2013). Nutritional quality of outer and inner leaves of green and red pigmented lettuces (*Lactuca sativa* L.) consumed as salads. *Scientia Horticulturae*. 151: 103-111.
- Blackwell, RD; Murray, AJS, and Lea, PJ. 1990. Enzymes of photorespiratory carbon pathway. In Lea, PJ. ed. *Methods in plant biochemistry*. Academic Press. USA. 129-144.
- Blockhuys, S., and Wittung-Stafshede, P. (2017). Roles of Copper-Binding Proteins in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(4): 871. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18040871>.
- Bouazizi, H., Jouili, H., Geitmann, A., and El Ferjani, E. (2010). Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and

- nutrient element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73(6): 1304-1308. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.05.014>.
- Bouis, H. E., and Welch, R. M. (2010). Biofortification: a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. *Crop Science*. 50:20. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.09.0531>.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci Technol*. 28: 25–30.
- Burkhead, J. L., Abdel-Ghany, S. E., Morrill, J. M., Pilon-Smits, E. A., and Pilon, M. (2003). The *Arabidopsis thaliana* CUTA gene encodes an evolutionarily conserved copper binding chloroplast protein. *The Plant Journal*. 34(6): 856-867. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01769.x>.
- Camejo, D., Frutos, A., Mestre, T. C., del Carmen Piñero, M., Rivero, R. M., and Martínez, V. (2020). Artificial light impacts the physical and nutritional quality of lettuce plants. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 61(1): 69-82. doi:10.1007/s13580-019-00191-z.
- De Valença, A. W., Bake, A., Brouwer, I. D., and Giller, K. E. (2017). Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. *Global Food Security*. 12: 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2016.12.001>.
- Elemike, E. E., Uzoh, I. M., Onwudiwe, D. C., and Babalola, O. O. (2019). The role of nanotechnology in the fortification of plant nutrients and improvement of crop production. *Applied Sciences*. 9(3): 499. <http://dx.doi.org/10.3390/app9030499>.
- Esparza-Rivera, E. L., Gallegos-Morales, G. D. A., Lira-Saldivar, R. H., y Hernández Suarez, M. (2015). Actividad Antimicrobial de Nanopartículas de Cobre y Óxido de Zinc contra Hongos y Bacterias Fitopatógenas. Tesis profesional, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista Saltillo Coahuila, México. 64 p.

- Espinoza, S. T. L., Peña, A. R., Valqui, N. C. V., y Chávez, J. C. N. (2018). Comportamiento productivo de 11 variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en sistema hidropónico NFT recirculante (Chachapoyas–Amazonas). *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*. 2(1): 50-56. DOI:10.25127/aps.20181.384.
- Fageria, N. K., Filho, M. B., Moreira, A., and Guimarães, C. M. (2009). Foliar fertilization of crop plants. *Journal of plant nutrition*. 32(6): 1044-1064. <https://doi.org/10.1080/01904160902872826>.
- FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2014. Conferencia internacional sobre nutrición: hambre oculta. Disponible en <https://www.fao.org/about/meetings>. (Consultado el 10 de enero de 2021).
- FAOSTAT (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2020. Base de datos estadísticos (Online Database). Disponible en: <http://Faostat.fao.org>. (Consultado el 03 de abril de 2021).
- Fernández, V., and Brown, P. H. (2013). From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. *Frontiers in plant Science*. 4: 289. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00289>.
- Freire B.M., Pereira R.M., Lange C.N., and Batista B.L. (2020) Biofortification of crop plants: a practical solution to tackle elemental deficiency. In: Mishra K., Tandon P.K., Srivastava S. (eds) *Sustainable solutions for elemental deficiency and excess in crop plants*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-8636-1_7.
- Gabriel Alcantar, González, Libia I. y Trejo–Téllez 2016. *Nutrición de Cultivos* 2^{da} edición. Editado por el Colegio de Posgraduados y Mundi–Prensa. México, D. F. 454 p.
- Garcia-Molina, A., Andrés-Colás, N., Perea-García, A., Neumann, U., Dodani, S. C., Huijser, P., and Puig, S. (2013). The *Arabidopsis* COPT6 transport protein

- functions in copper distribution under copper-deficient conditions. *Plant and Cell Physiology*. 54(8): 1378-1390. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct088>.
- Garg, M., Sharma, N., Sharma, S., Kapoor, P., Kumar, A., Chunduri, V., and Arora, P. (2018). Biofortified crops generated by breeding, agronomy, and transgenic approaches are improving lives of millions of people around the world. *Frontiers in Nutrition*. 5: 12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00012>.
- González Gómez, H., Ramírez Godina, F., Ortega Ortiz, H., Benavides Mendoza, A., Robledo Torres, V., and Cabrera De la Fuente, M. (2017). Use of chitosan-PVA hydrogels with copper nanoparticles to improve the growth of grafted watermelon. *Molecules*. 22(7): 1031. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules22071031>.
- Hafeez, A., Razzaq, A., Mahmood, T., and Jhanzab, H. M. (2015). Potential of copper nanoparticles to increase growth and yield of wheat. *J Nanosci Adv Technol*. 1(1): 6-11. <https://doi.org/10.24218/jnat.2015.02>.
- Hefferon, K. L. (2015). Nutritionally enhanced food crops; progress and perspectives. *International journal of molecular sciences*. 16(2): 3895-3914. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms16023895>.
- Hefferon, Kathleen L. (2016). ¿Can Biofortified Crops Help Attain Food Security? *Current Molecular Biology Reports*. 2(4): 180–185. <https://doi.org/10.1007/s40610-016-0048-0>.
- Hernández-Hernández, H., Quiterio-Gutiérrez, T., Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., Hernández-Fuentes, A. D., Cabrera de la Fuente, M., Valdés-Reyna, J., and Juárez-Maldonado, A. (2019). Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. *Plants*. 8(10): 355. <https://doi.org/10.3390/plants8100355>.
- Hong, J., Rico, C. M., Zhao, L., Adeleye, A. S., Keller, A. A., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L. (2015). Toxic effects of copper-based nanoparticles on

- compounds to lettuce (*Lactuca sativa* L.) and alfalfa (*Medicago sativa*). *Environmental Science: Processes and Impacts*. 17(1): 177-185.
- Hong, J., Wang, C., Wagner, D. C., Gardea-Torresdey, J. L., He, F., and Rico, C. M. (2021). Foliar application of nanoparticles: mechanisms of absorption, transfer, and multiple impacts. *Environmental Science: Nano*. 8(5): 1196-1210. DOI: 10.1039/d0en01129.
- Jampílek J., and Kráľová K. (2020) Beneficial effects of metal- and metalloid-based nanoparticles on crop production. *Nanotechnology for Agriculture*. Springer, Singapore. 161- 219. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9370-0_11.
- Jardón-Maximino, N., Pérez-Alvarez, M., Sierra-Ávila, R., Ávila-Orta, C. A., Jiménez-Regalado, E., Bello, A. M., and Cadenas-Pliego, G. (2018). Oxidation of copper nanoparticles protected with different coatings and stored under ambient conditions. *Journal of Nanomaterials*. 1-8. <https://doi.org/10.1155/2018/9512768>.
- Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortíz, H., Cadenas-Pliego, G., Valdés-Reyna, J., Pinedo-Espinoza, J. M., López-Palestina, C. U., and Hernández-Fuentes, A. D. (2018). Foliar application of cu nanoparticles modified the content of bioactive compounds in *moringa Oleifera* Lam. *Agronomy*. 8(9): 167. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy8090167>.
- Kannan S. (2010). Foliar fertilization for sustainable crop production. in: lichtfouse e. (eds) genetic engineering, biofertilisation, soil quality and organic farming. *Sustainable Agriculture vol 4*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-8741-6_13.
- Karimi, P., Khavari-Nejad, R. A., Niknam, V., Ghahremaninejad, F., and Najafi, F. (2012). The effects of excess copper on antioxidative enzymes, lipid peroxidation, proline, chlorophyll, and concentration of Mn, Fe, and Cu in *Astragalus neomobayenii*. *The Scientific World Journal*. 1-6. doi:10.1100/2012/615670.

- Khalid, M., Bilal, M., and Huang, D. F. (2019). Role of flavonoids in plant interactions with the environment and against human pathogens. *Journal of Integrative Agriculture*. 18(1): 211-230. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62555-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62555-4).
- Khan, A. A., Rahmani, A. H., Aldebasi, Y. H., and Aly, S. M. (2014). Biochemical and pathological studies on peroxidases -an updated review. *Global Journal of Health Science*. 6(5): 87–98. <https://doi.org/10.5539/gjhs.v6n5p87>.
- Kim, M. J., Moon, Y., Tou, J. C., Mou, B., and Waterland, N. L. (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 49: 19-34. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.004>.
- Kohatsu, M. Y., Lange, C. N., Pelegrino, M. T., Pieretti, J. C., Tortella, G., Rubilar, O., and Jesus, T. A. (2021). Foliar spraying of biogenic CuO nanoparticles protects the defence system and photosynthetic pigments of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Cleaner Production*. 324: 129264. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129264>.
- Lamaison, J. L. C. and Carnet, A. 1990. Contents in main flavonoid compounds of *Crataegus Monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (poiret) D. C. flowers at different development stages. *Pharmaceutica Acta Helvetica*. 65: 315-320.
- Lee, S., and Lee, J. (2015). Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: Types and characteristics of hydroponic food production methods. *Scientia Horticulturae*. 195: 206-215. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.011>.
- Lequeux, H., Hermans, C., Lutts, S., and Verbruggen, N. (2010). Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48(8): 673-682. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.05.005>.
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., and Feng, Y. (2015). The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *International Journal of*

- Molecular Sciences. 16(11): 26087–26124.
<https://doi.org/10.3390/ijms161125942>.
- Licata, M. (2019). Copper in nutrition. <https://www.zonadiet.com/nutricion/cobre.htm>.
 (Consultado en octubre de 2020).
- Lira Saldívar, R. H., Méndez Argüello, B., Santos Villarreal, G. D. L., and Vera Reyes, I. (2018). Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta universitaria*. 28(2): 9-24. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>.
- López-Vargas, E. R., Ortega-Ortíz, H., Cadenas-Pliego, G., de Alba Romenus, K., Cabrera de la Fuente, M., Benavides-Mendoza, A., and Juárez-Maldonado, A. (2018). Foliar application of copper nanoparticles increases the fruit quality and the content of bioactive compounds in tomatoes. *Applied Sciences*. 8(7): 1020. <http://dx.doi.org/10.3390/app8071020>.
- Majid, M., Khan, J. N., Ahmad Shah, Q. M., Masoodi, K. Z., Afroza, B., and Parvaze, S. (2020). Evaluation of hydroponic systems for the cultivation of Lettuce (*Lactuca sativa* L., var. Longifolia) and comparison with protected soil-based cultivation. *Agricultural Water Management*. 106572. doi: 10.1016/j.agwat.2020.106572.
- Mallek-Ayadi, S.; Bahloul, N. y Kechaou, N. 2019. Caracterización, compuestos fenólicos y propiedades funcionales de los peelings de Cucumis melo L. *Food Chem*. 221(1): 1691-1697. doi:10.1016 / j. foodchem.2016.10.117.
- Manqueros-Aviles, V. E. (2015). mediciones nutritivas en un sistema hidropónico NFT mediante el uso de sensores de iones selectivos y labview. In 1er Congreso Internacional de Ciencias de la Ingeniera- 1-8.
- Márquez-Quiroz, C., Guillén-Molina, M., De la Cruz-Lázaro, E., Castañón-Nájera, G., Sánchez-Chávez, E., Moreno-Reséndez, A., y López-Espinosa, S. T. (2015). La biofortificación de cultivos: una alternativa que contribuye a la seguridad alimentaria y nutricional. *Tópicos Selectos de Sustentabilidad: Un Reto Permanente*. 3: 14-22.

- Maury, G. L., Rodríguez, D. M., Hendrix, S., Arranz, J., Boix, Y. F., Pacheco, A. O., Díaz, J. G., Morris-Quevedo, H. J., Dubois, A. F., Aleman, E. I., Beenaerts, N., Méndez-Santos, I. E., Ratón, T. O., Cos, P., and Cuypers, A. (2020). Antioxidants in plants: a valorization potential emphasizing the need for the conservation of plant biodiversity in Cuba. *Antioxidants*. 9(11): 1048. <https://doi.org/10.3390/antiox9111048>.
- Morales, J. M. L., and Jiménez, G. S. (2012). El daño por oxidación causado por cobre y la respuesta antioxidante de las plantas. *Interciencia*. 37(11): 805-811.
- Mottaleb, S. A., Hassan, A. Z., El-Bahbohy, R., and Mahmoud, A. W. M. (2021). ¿Are Copper Nanoparticles Toxic to All Plants? A Case Study on Onion (*Allium cepa* L.). *Agronomy*. 11(5): 1006. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy11051006>.
- Mou B. (2008) Lettuce. In: Prohens J., Nuez F. (eds) *Vegetables I. Handbook of Plant Breeding*, vol 1. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-30443-4_3.
- Muhammad, Z., Inayat, N., and Majeed, A. (2020). Application of nanoparticles in agriculture as fertilizers and pesticides: challenges and opportunities. in *new frontiers in stress management for durable agriculture*. Springer, Singapore. 281-293. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1322-0_17.
- Mykhaylenko, N.F.; Zolotareva, E.K.. (2017). The Effect of Copper and Selenium Nanocarboxylates on Biomass Accumulation and Photosynthetic Energy Transduction Efficiency of the Green Algae *Chlorella Vulgaris*. *Nanoscale Res. Lett.* 12: 147.
- Nagata, M.; Yamashita, I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 39: 925–928. <https://doi.org/10.3136/nskkk1962.39.925>.

- Naidoo, L. and Kistnasamy, E.J. 2015. A desktop evaluation of the potential impact of nanotechnology applications in the field of environmental health in a developing country. *American Journal of Public Health Research*. 3(5): 182-186.
- Nair, P. M. G., and Chung, I. M. (2014). A mechanistic study on the toxic effect of copper oxide nanoparticles in soybean (*Glycine max* L.) root development and lignification of root cells. *Biological Trace Element Research*. 162(1): 342-352.
- Nekrasova, G. F., Ushakova, O. S., Ermakov, A. E., Uimin, M. A., and Byzov, I. V. (2011). Effects of copper (II) ions and copper oxide nanoparticles on *Elodea densa* Planch. *Russian Journal of Ecology*. 42(6): 458-463. <https://doi.org/10.1134/S1067413611060117>.
- Niu, G., and Masabni, J. (2022). Hydroponics. In *Plant Factory Basics, Applications and Advances*. Academic Press. 153-166. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85152-7.00023-9>.
- Niu, J., Liu, C., Huang, M., Liu, K., and Yan, D. (2020). Effects of foliar fertilization: a Review of current status and future perspectives. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 21(1): 104–118. doi:10.1007/s42729-020-00346-3
- Ojeda-Barrios, D. L., Morales, I., Juárez-Maldonado, A., Sandoval-Rangel, A., Fuentes-Lara, L. O., and Benavides-Mendoza, A. (2020). Importance of nanofertilizers in fruit nutrition. *Elsevier*. 497-508. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818732-6.00035-6>.
- Oliveira, L. D. L. D., Carvalho, M. V. D., and Melo, L. (2014). Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Revista Ceres*. 61: 764-779. <https://doi.org/10.1590/0034-737x201461000002>.
- Orcutt DM, and Nilsen ET (2000). Phytotoxicity and soil pollution: heavy metals and xenobiotics. *Physiology of Plants Under Stress: Soil and Biotic Factors*. Wiley. Nueva York, EEUU. 495-501.

- Oregón, S. (2020). Oregon State University. Micronutrient Information Center. <https://lpi.oregonstate.edu/es/mic/minerales/cobre>. (Consultado en octubre de 2020).
- Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., and Dwivedi, U. N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases. *Biochem Anal Biochem*. 6(1): 308. doi: 10.4172/2161-1009.1000308.
- Pérez-Labrada, F., Hernández-Hernández, H., López-Pérez, M. C., González-Morales, S., Benavides-Mendoza, A., and Juárez-Maldonado, A. (2020). Nanoparticles in plants: morphophysiological, biochemical, and molecular responses. In *Plant life under changing environment*. Academic Press. 289-322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818204-8.00016-3>.
- Pérez-Labrada, F., López-Vargas, E. R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., and Juárez-Maldonado, A. (2019). Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles. *Plants*. 8(6): 151. <http://dx.doi.org/10.3390/plants8060151>.
- Pilon. M (2011). Moving copper in plants. *The New Phytologist*. 192(2): 305-307. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03869.x>.
- Pinedo-Guerrero, Z. H., Hernández-Fuentes, A. D., Ortega-Ortiz, H., Benavides-Mendoza, A., Cadenas-Pliego, G., and Juárez-Maldonado (2017). Cu Nanoparticles in Hydrogels of Chitosan-PVA Affects the Characteristics of Post-Harvest and Bioactive Compounds of Jalapeño Pepper. *Molecules*. 22(6): 926. <https://doi.org/10.3390/molecules22060926>.
- Pramanik, P., Krishnan, P., Maity, A., Mridha, N., Mukherjee, A., and Rai, V. (2020). Application of nanotechnology in agriculture. In *Environmental Nanotechnology*. Springer. 4: 317-348. https://doi.org/10.1007/978-3-030-26668-4_9

- Printz, B., Lutts, S., Hausman, J. F., and Sergeant, K. (2016). Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. *Frontiers in Plant Science*. 7: 601. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00601>.
- Rai, M., and Ingle, A. (2012). Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests. *Applied microbiology and Biotechnology*. 94(2): 287-293. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-3969-4>.
- Rai, M., Ingle, A., Pandit, R., Paralikar, P., Shende, S., Gupta, I., Biswas, J. and da Silva, S. (2018). Copper and copper nanoparticles: role in management of insect-pests and pathogenic microbes. *Nanotechnology Reviews*. 7(4): 303-315. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2018-0031>.
- Rajput, V. D., Minkina, T., Suskova, S., Mandzhieva, S., Tsitsuashvili, V., Chaplugin, V., and Fedorenko, A. (2018). Effects of copper nanoparticles (CuO NPs) on crop plants: a mini review. *BioNanoScience*. 8(1): 36-42. <https://doi.org/10.1007/s12668-017-0466-3>.
- Ravet, K., and Pilon, M. (2013). Copper and iron homeostasis in plants: the challenges of oxidative stress. *Antioxidants and redox signaling*. 19(9): 919-932. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5084>.
- Rius-Ruiz, F. X., Andrade, F. J., Riu, J., and Rius, F. X. (2014). Computer-operated analytical platform for the determination of nutrients in hydroponic systems. *Food chemistry*. 147: 92-97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.114>
- Rosell, C. M. (2016). Fortification of Grain-Based Foods. *Food Science*. doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.00074-3.
- Ruiz-Cruz, S., Chaparro-Hernández, S., Hernández-Ruiz, K. L., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Gassos Ortega, L. E., and López Mata, M. A. (2017). Flavonoids: Important biocompounds in food. *Flavonoids-from biosynthesis to human health*. IntechOpen. 353-369. doi:10.5772/67864.

- Sánchez-Del Castillo, Felipe, Moreno-Pérez, Esaú del C., Pineda-Pineda, Joel, Osuna, José M., Rodríguez-Pérez, Juan E., y Osuna-Encino, Tomás. (2014). Producción hidropónica de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) con y sin recirculación de la solución nutritiva. *Agrociencia*. 48(2): 185-197.
- Shahidi, F., and Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects. *Journal of Functional Foods*. 18: 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>.
- Shams, M., Ekinici, M., Turan, M., Dursun, A., Kul, R., and Yildirim, E. (2019). Growth, nutrient uptake and enzyme activity response of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) to excess copper. *Environmental Sustainability*. 2(1): 67-73. <https://doi.org/10.1007/s42398-019-00051-7>.
- Sharma, I., and Ahmad, P. (2014). Catalase: a versatile antioxidant in plants. In *Oxidative damage to plants*. Academic Press. 131-148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00004-6>.
- Shatilov, M. V., Razin, A. F., and Ivanova, M. I. (2019). Analysis of the world lettuce market. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 395: 012053. doi:10.1088/1755-1315/395/1/012053.
- Shukla, P., Chaurasia, P., Younis, K., Qadri, O. S., Faridi, S. A., and Srivastava, G. (2019). Nanotechnology in sustainable agriculture: studies from seed priming to post-harvest management. *Nanotechnology for Environmental Engineering* 4(1): 11. <https://doi.org/10.1007/s41204-019-0058-2>.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Ciudad de México. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2019/AtlasAgroalimentario/ (consultado el 10 abril de 2021).

- Sierra-Ávila, R., Pérez-Alvarez, M., Cadenas-Pliego, G., Comparán Padilla, V., Ávila-Orta, C., Pérez Camacho, O., and Jiménez-Barrera, R. M. (2015). Synthesis of copper nanoparticles using mixture of allylamine and polyallylamine. *Journal of Nanomaterials*. 1-8. <https://doi.org/10.1155/2014/361791>.
- Singh, N., Bhuker, A., and Jeevanadam, J. (2021). Effects of metal nanoparticle-mediated treatment on seed quality parameters of different crops. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1-23. <https://doi.org/10.1007/s00210-021-02057-7>.
- Singleton, V. L.; Orthofer R. and Lamuela-Raventos. R. m. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299: 152-178.
- Soccio, M., Laus, M., Flagella, Z., and Pastore, D. (2018). Assessment of antioxidant capacity and putative healthy effects of natural plant products using soybean lipoxygenase-based methods. *Molecules*. 23(12): 3244. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules23123244>.
- Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., and Vitti, A. (2015). Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(12): 13561–13578. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms160613561>.
- Steiner, A. A. (1984). The universal nutrient solution. In *International Society for Soilless Culture. Proceedings of the Sixth International Congress on Soilless Culture, Lunteren (pp. 633-650)*. Wageningen, The Netherlands: Secretariat of ISOSC.
- SAS Institute. (2004). *Statistical Analysis System. SAS Release 9.1.3*. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.

- Teodoro, A. J. (2019). Bioactive compounds of food: their role in the prevention and treatment of diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1–4. <https://doi.org/10.1155/2019/3765986>.
- Trujillo-Reyes, J., Majumdar, S., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L. (2014). Exposure studies of core–shell Fe/Fe₃O₄ and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: are they a potential physiological and nutritional hazard. *Journal of Hazardous Materials*. 267: 255-263. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.11.067>.
- Valdivia Zambrana, H. B., and Almanza Vega, G. (2016). Evaluation of the effect of macronutrients from human urine as fertilizer in the grow of *Lactuca Sativa*. *Revista Boliviana de Química*. 33(1): 20-26.
- Vuong L.D. (2019) Nanoparticles for the Improved Crop Production. In: Panpatte D., Jhala Y. (eds) *Nanotechnology for Agriculture: Crop Production and Protection*. Springer, Singapore. 85-106. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9374-8_5.
- Wang, Y., Lin, Y., Xu, Y., Yin, Y., Guo, H., and Du, W. (2019). Divergence in response of lettuce (var. *ramosa* Hort.) to copper oxide nanoparticles/microparticles as potential agricultural fertilizer. *Environmental Pollutants and Bioavailability*. 31(1): 80-84.
- Xiong, T., Zhang, T., Xian, Y., Kang, Z., Zhang, S., Dumat, C., and Li, S. (2021). Foliar uptake, biotransformation, and impact of CuO nanoparticles in *Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort. *Environmental geochemistry and health*. 43(1): 423-439. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00734-9>.
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., and Li, H. B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International journal of molecular sciences*. 18(1): 96. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>.

Zafar, H., Aziz, T., Khan, B., Mannan, A., Rehman, R. U., and Zia, M. (2020). CuO and ZnO nanoparticle application in synthetic soil modulates morphology, nutritional contents, and metal analysis of *Brassica nigra*. *ACS omega*. 5(23): 13566-13577. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00030>.