

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Efectos De Nanomateriales De Carbono En Plantas De Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Inoculadas Con *Fusarium oxysporum*

Por:

DIEGO IVÁN ESCOBAR HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Efectos De Nanomateriales De Carbono En Plantas De Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Inoculadas Con *Fusarium oxysporum*

Por:

DIEGO IVÁN ESCOBAR HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

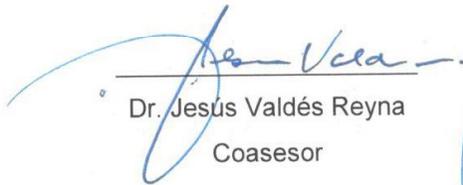
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor Principal Interno



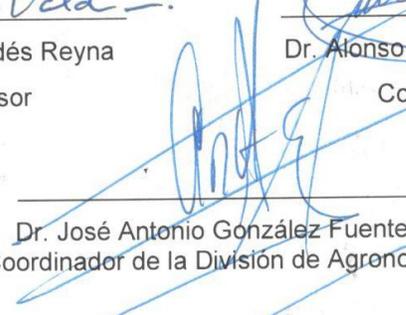
M.C. Yolanda González García
Asesor Principal Externo



Dr. Jesús Valdés Reyna
Coasesor



Dr. Alonso Méndez López
Coasesor



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



Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2021

DERECHOS DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarlos como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo es original.

Pasante

Diego Iván Esobar Hernández

Firma y Nombre

Asesor principal

Antonio Juárez Maldonado

Firma y Nombre

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por el gran aporte de sus profesores, programas, asignaturas e instalaciones.

Al Dr. Antonio Juárez Maldonado, al permitirme ser parte de este proyecto, por compartir su confianza y conocimientos, herramientas y al brindar todas las facilidades para poder realizar esta investigación.

A M.C. Yolanda González García, por compartir sus conocimientos, confianza, tiempo y consejos durante el desarrollo de este experimento.

Al personal docente del departamento de Botánica, por la formación, dedicación y enseñanza a través del transcurso de la carrera.

A subdirección de difusión cultural, al igual que al taller de artes plásticas, por las actividades extracurriculares que ofrecen, y por todos los eventos en los que tuve oportunidad de participar.

A Alexandra Elbakyan por la útil herramienta que ha creado y brindado para indagar y divulgar la información científica.

DEDICATORIAS

A todas las personas importantes en mi vida, en especial a mi familia, a mis padres Lilia Hernández Aparicio y Rolando Miguel Escobar Vásquez, hermanas Lilia Beatriz Escobar Hernández, Luciana Escobar Hernández, Andrea Escobar Hernández y María Loreley Escobar Hernández y hermanos; Daniel Escobar Hernández, Mauricio Escobar Hernández y Braulio Escobar Hernández agradezco sus consejos, apoyo y comprensión, gracias a todos ustedes he podido formarme y ser una mejor persona, estoy muy orgulloso de ustedes y son mi principal inspiración a seguir creciendo.

A mis amigos, compañeros de generación, a todas las personas que se cruzaron en el trayecto y con las cuales pude compartir conocimientos y buenos momentos.

INDICE GENERAL

DERECHOS DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
DEDICATORIAS.....	V
INDICE GENERAL.	VI
INDICE DE FIGURAS.....	VIII
RESUMEN.....	IX
I. INTRODUCCION.....	1
1.1 Justificación	4
1.2 Objetivos	5
1.2.1 Objetivo general	5
1.3 Hipótesis	6
II. REVISION DE LITERATURA.....	6
2.1 Cultivo del tomate	6
2.2 Enfermedades del cultivo del tomate	7
2.2.1 Plántula	7
2.2.2 Follaje.....	8
2.2.3 Tallos.....	8
2.2.4 Frutos	8
2.3 <i>Fusarium oxysporum</i>	8
2.4 Nanotecnología.....	10
2.4.1 Nanomateriales de carbono	11
2.4.2 Nanomateriales en el control de agentes patógenos.....	12
III. MATERIALES Y METODOS	13
3.1 Establecimiento del experimento	13
3.2 Material vegetal.....	13
3.3 Características de los nanomateriales de carbono	13

3.4	Desarrollo del cultivo.....	13
3.5	Evaluación y severidad de <i>F. oxysporum</i>	14
3.6	Variables bioquímicas	15
3.6.1	Compuestos fenólicos	15
3.6.2	Flavonoides	16
3.6.3	Ácido ascórbico	16
3.7	Calidad de fruto.....	17
3.8	Análisis estadístico.....	17
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	18
V.	DISCUSION	30
VI.	CONCLUSIONES	34
VII.	LITERATURA CITADA.....	35

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia (A) y Severidad (B) de <i>F. oxysporum</i> en el cultivo de tomate.....	18
Figura 2. Altura de plantas del cultivo de tomate.....	19
Figura 3. Diámetro del tallo de plantas de tomate.....	20
Figura 4. Número de hojas de plantas de tomate.....	21
Figura 5. Biomasa fresca de plantas de tomate	22
Figura 6. Número de frutos de plantas del cultivo de tomate	23
Figura 7. Contenido de fenoles en hojas de tomate	24
Figura 8. Contenido de flavonoides en hojas de tomate	25
Figura 9. Contenido de ácido ascórbico en hojas de tomate.....	26
Figura 10. Calidad de fruto de tomate	27
Figura 11. Calidad de fruto de tomate.....	29

RESUMEN

Fusarium oxysporum (FOL), es un hongo fitopatógeno causante de la marchitez vascular, una enfermedad de suma importancia en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) ya que puede causar graves daños e impactos en la producción y cuantiosas pérdidas económicas. La nanotecnología ha proporcionado varias herramientas agrícolas como los nanomateriales a base de carbono como alternativa para controlar diversos problemas en la agricultura. Se estableció un cultivo de tomate para determinar el efecto de los nanomateriales de carbono (CNMs) sobre el desarrollo y control de *F. oxysporum*. Utilizando nanotubos de carbono de pared múltiple (CNT a 50 y 100 mg L⁻¹) y láminas de grafeno (GP 250 y 500 mg L⁻¹). Los resultados obtenidos mostraron que ambos nanomateriales de carbono disminuyeron la incidencia y severidad de *F. oxysporum*. Particularmente la aplicación de 100 mg L⁻¹ de CNT disminuyó la incidencia de FOL en 44% y la severidad en 56 %. Se obtuvieron resultados positivos en la calidad de fruto, la aplicación de 100 mg L⁻¹ de CNT aumento contenido de vitamina C con respecto FOL en 43 % y la aplicación de GP 500 mg L⁻¹ disminuyó el potencial de óxido reducción (ORP) con una diferencia con respecto a FOL -7.8 %. Los resultados en esta investigación sugieren que la aplicación de nanomateriales de carbono inducen cambios, que ayudan a reforzar las defensas de las plantas y reducen el estrés causado por *F. oxysporum*.

Palabras clave: nanotubos de carbono; grafeno, vitamina C, ORP.

I. INTRODUCCION

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se considera una de las hortalizas de mayor importancia en el mundo. La producción mundial de tomate hasta el año 2019 se ubicó en un máximo histórico de 182.3 millones de toneladas (FIRA, 2019). Los principales productores de esta hortaliza a nivel mundial son China, India, Estados Unidos y Turquía (SADER, 2019). México se encuentra en el 9º lugar de la producción mundial con un total de 3,780,950 toneladas (SADER-SIAP, 2019), y es el principal exportador de tomate en el mundo. En 2017 colaboró con 24% de las exportaciones totales de esta hortaliza y se encuentra en 2º lugar de los productos agrícolas más exportados (SADER, 2019). En 2018, el tomate fue el segundo producto más importante en el valor de las exportaciones agropecuarias mexicanas, con una participación de 12.8 % (FIRA, 2019).

En México, los principales estados productores de esta hortaliza en el ciclo Primavera – Verano (PV) son: San Luis Potosí, Baja California, Michoacán, Zacatecas y Jalisco; mientras que en el Otoño – Invierno (OI) son: Sinaloa, Sonora, Michoacán y Jalisco (SADER, 2019). El cultivo del tomate es el cuarto en importancia por su contribución en el valor de la producción agrícola primaria en México. En 2017, participó con 4.3 % del total, después del maíz en grano (17.1 %), el aguacate (6.8 %) y la caña de azúcar (6.5 %) (FIRA, 2019).

Derivado de la alta demanda de producción y consumo, el tomate es uno de los cultivos con mayores problemas fitosanitarios. Las enfermedades son un factor limitante en su producción, están presentes en cada una de las etapas fenológicas, en plántula, damping off (*Pythium spp.*, *Macrophomina phaseoli*, *Phyllosticta spp.*, *Phytophthora spp.*, *Sclerotium rolfsii*, *Thielaviopsis spp.* y *Pseudomonas spp.*), en follaje: tizón temprano (*Alternaria solani*) y tizón tardío (*Phytophthora infestans*), en tallos (*Fusarium spp.*, *Verticillium dahliae*) y en frutos: pudrición apical; (*Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*) y pudrición por *Alternaria* (Álvarez-Hernández, 2012).

La marchitez del tomate es una de las enfermedades más importantes de este cultivo, es causada por el patógeno fúngico *F. oxysporum*. El desarrollo de la infección vascular por FOL se manifiesta de manera compleja, el proceso de infección inicia con el reconocimiento de la raíz por el patógeno a través de señales huésped-patógeno, después se da la unión a la superficie de los pelos radiculares y propagación de las hifas, posteriormente surge la invasión de la corteza de la raíz y tejido vascular y diferenciación dentro de los vasos del xilema para finalmente perpetrar la exudación de toxinas y factores de virulencia. La colonización de los vasos conduce al desarrollo de la enfermedad y al marchitamiento característico de la planta huésped (Inami *et al.*, 2014). La enfermedad se manifiesta morfológicamente por plantas marchitas con hojas de color amarillo con rendimiento de cultivo mínimo o nulo (Srinivas *et al.*, 2019). En el cultivo de tomate puede llegar a causar graves daños y hasta pérdidas totales en la producción (Inami *et al.*, 2014).

El control de agentes fitopatógenos en el suelo, es de los más complejos de lograr, por lo cual se han desarrollado estrategias como prácticas culturales, control biológico y control químico; este último es el más utilizado por ser económico y por su alta eficacia para el control de estos agentes patógenos (Villa-Martínez *et al.*, 2015). Sin embargo el uso excesivo de agroquímicos ha demostrado ser inadecuado porque contribuye a la contaminación del suelo, de los alimentos, además de afectar el equilibrio ecológico y ser tóxico para los agricultores (Moreno, 2017).

La nanotecnología ha incursionado en diversas disciplinas científicas como la medicina, electrónica, industria, y las ciencias agrícolas, esta última es un tema de gran interés entre los científicos (Patel *et al.*, 2019). Esta implica la manipulación de materiales en una escala de 1 a 100 nanómetros (nm) (Verma *et al.*, 2019).

La nanotecnología favorece a la agricultura de precisión para optimizar prácticas agrícolas como fertilizantes y promotores del crecimiento basados en nanomateriales para aumentar la producción de cultivos, así como la creación de herbicidas y pesticidas a base de nanomateriales, también se pueden utilizar fertilizantes nanoencapsulados de liberación lenta que puede reducir la cantidad de agroquímicos aplicados (Majeed *et al.*, 2020).

Dentro de esta área se encuentran los denominados nanomateriales de carbono, los más estudiados son nanotubos de carbono CNT de pared simple (SWCNT), CNT de paredes múltiples (MWCNT), grafeno y fullerenos. El diámetro de los CNT varía desde unos pocos nanómetros para SWCNT hasta varias decenas de nanómetros para MWCNT. Su longitud suele ser de pocos micrómetros. Los CNT tienen propiedades ópticas, eléctricas, térmicas, mecánicas y químicas (Liné *et al.*, 2017). Sus estructuras son cristalinas, compuestas de carbono covalente sp^2 enlazadas en átomos de carbono. La estructura de los CNT influye directamente en sus propiedades como conductividad eléctrica, conductividad térmica, reactividad química, punto de fusión, fotoluminiscencia y superficie específica. Las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales son reguladas por el tamaño y la forma de estos (Ray *et al.*, 2020).

En contraste el grafeno (GP) es una nanoestructura compuesta por una sola capa de átomos de carbono densamente ensamblados en una estructura de anillo de benceno con configuraciones termodinámicamente favorables de sp^3 a sp^2 , dependiendo del calor de la formación y las condiciones de presión. Tiene una longitud de enlace carbono-carbono de aproximadamente 0.142 nm y el diámetro de la capa de grafeno es de aproximadamente 0.35 nm. Esto le confiere propiedades únicas como estructura plana bidimensional, gran superficie, estabilidad química y mecánica, excelente conductividad, buena biocompatibilidad y facilidad de funcionalización (González-García *et al.*, 2019).

Se ha demostrado que los nanomateriales de carbono tienen efectos benéficos sobre las plantas como el aumento en la germinación, capacidad de incrementar la tolerancia a déficit hídrico, aumento de la biomasa aérea, incremento del número y tamaño del fruto (Verma *et al.*, 2019). También tienen un efecto positivo en el sistema de defensa antioxidante de diferentes cultivos ya que pueden incrementar el contenido de clorofila, y enzimas antioxidantes, lo que potencialmente puede aumentar la tolerancia contra varios tipos de estrés biótico o abiótico (González-García *et al.*, 2019).

Por otra parte, pueden llegar a generar efectos negativos como inhibir el crecimiento de las plántulas y provocar cambios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos, moleculares y nutricionales (Abd-Elsalam *et al.*, 2020). Los nanomateriales tienen diferentes efectos en las plantas, e inclusive producen

distintas respuestas según el tipo de estrés con el que interactúan que van desde cambios fisiológicos, bioquímicos, genéticos, hasta cambios en la anatomía e histología de las plantas (Pérez-Labrada *et al.*, 2020).

Se ha demostrado que los nanomateriales de carbono pueden inhibir significativamente la biomasa micelial y la germinación de esporas de *F. graminearum* y *F. poae*, debido a sus propiedades físicas, como la fuerza de Waals y estado de dispersión que, determinan su eficacia antifúngica contra las esporas (Wang *et al.*, 2014). Los CNT tienen una fuerte actividad antimicrobiana que implica daño físico y químico. El daño físico es a través del contacto directo causando daño a la membrana y modificaciones en la morfología celular que generan fugas de material citoplásmico, liberación de enzimas y electrolitos y degradación de lípidos que resultan en la muerte celular de el microorganismo. La llamada "captura de microorganismos" es otro mecanismo antibacteriano de los nanomateriales de carbono, ya que sus estructuras laminares puede interactuar con las bacterias y cubrir fácilmente sus superficies, bloquear los sitios activos y disminuir la viabilidad de los microorganismos, ya que están atrapados e inactivos ya que permanecen aislado de su entorno y no puede proliferar (González-García *et al.*, 2021).

Por lo anterior el, objetivo del presente trabajo fue comprobar los efectos que tienen diferentes concentraciones de los nanomateriales de carbono contra *F. oxysporum* en plantas de tomate.

1.1 Justificación

F. oxysporum es un hongo ascomiceto patógeno transmitido por el suelo que afecta a muchas plantas en el mundo al causar marchitez, que es un síndrome vascular letal en las plantas, con más de 100 especies específicas de hospedador de *F. oxysporum* se han distribuido en todo el mundo. Es una enfermedad grave, que afecta a una amplia gama de cultivos, por ejemplo en cereales causa pérdidas de rendimiento del 10 al 30 % en Europa (Nehra *et al.*, 2021). En el cultivo del tomate, las pérdidas *por F. oxysporum* en países como la India puede reducir hasta el 45% de la producción total, se han estimado

pérdidas en tomate de invernadero de hasta 90% y 95% en Túnez y Canadá, respectivamente, y se ha observado una incidencia del 100% en cultivos de los EE. UU (McGovern, 2015).

El uso mundial de agroquímicos es de aproximadamente dos millones de toneladas por año: el 45 % se utiliza en Europa, el 25% en los EE. UU., y el 25% en el resto del mundo. El uso inapropiado de pesticidas aumenta la resistencia a patógenos y plagas, reduce la biodiversidad y contribuye a la contaminación ambiental. La aplicación de la nanotecnología en la agricultura minimiza el costo de fertilizantes y pesticidas. También mejora las características inteligentes de los insumos agrícolas como entrega dirigida, liberación controlada, solubilidad creciente y vida útil prolongada. Estas características no solo los hacen más eficientes sino que también reducen el riesgo de contaminación ambiental (Duhan *et al.*, 2017).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Determinar el impacto de los nanomateriales de carbono sobre *F. oxysporum* en plantas de tomate.

1.2.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto de los nanomateriales de carbono sobre la incidencia y severidad de *F. oxysporum* en plantas de tomate.

Determinar el efecto de los nanomateriales de carbono sobre el rendimiento del cultivo.

Determinar el efecto de los nanomateriales de carbono sobre la acumulación de biocompuestos en las plantas de tomate.

Evaluar los efectos de los nanomateriales de carbono en la calidad del fruto del tomate.

1.3 Hipótesis

La aplicación de nanomateriales de carbono induce respuestas que incrementan la capacidad de tolerancia a *F. oxysporum* en el cultivo de tomate.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Cultivo del tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza de gran importancia a nivel nacional e internacional, por su amplio consumo, el área cosechada y el valor económico de la producción. El tomate es un producto básico considerado saludable por su contenido en fibra, proteínas, potasio, vitaminas E, A, C, y es una de las principales fuentes de licopeno, el cual posee efectos antioxidantes, antiinflamatorios y anticancerígenos (SADER, 2019).

En 2017, la producción mundial de esta hortaliza alcanzó 182.3 millones de toneladas. Entre 2007 y 2017, aumentó a una tasa promedio anual de 2.9 %. El 61.0 % de la producción se concentró en cinco países: China 32.6 %, India 11.4 %, Turquía 7.0 %, Estados Unidos 6.0 % y Egipto 4.0 %. México obtuvo la novena posición con una producción de 2.3 % (SADER-SIAP, 2019).

En 2018, el tomate fue la segunda hortaliza más importante de las exportaciones agropecuarias mexicanas, con una participación de 12.8 %. En la última década, las exportaciones mexicanas de esta hortaliza crecieron a una tasa promedio anual de 4.7 %, al ubicarse en 1.68 millones de toneladas en 2018, esto

equivalente a 48.7 % de la producción nacional. El 99.7 % de las ventas de tomate se destinó a Estados Unidos. En ese año, México abasteció 91.1 % de las compras estadounidenses de tomate fresco (FIRA, 2019).

El principal estado productor de esta hortaliza es Sinaloa con una producción de 1,088,252 toneladas en el año 2018, con un valor de su producción (7 mil 24 millones de pesos), el consumo per cápita de esta hortaliza en México es de 16.8 kg (SADER-SIAP, 2019).

2.2 Enfermedades del cultivo del tomate

Los 5 principales patógenos fúngicos de plantas debido a su importancia científica y económica, son: (1) *Magnaporthe oryzae*, (2) *Botrytis cinerea*; (3) *Puccinia spp.*; (4) *Fusarium graminearum*; (5) *Fusarium oxysporum*. En cuarto y quinto lugar se encuentran dos especies de *Fusarium*, *F. graminearum* que causa daños significativos predominantemente a los cereales y algunas especies no cereales, y *F. oxysporum* tiene una amplia gama de hospedadores, con graves pérdidas en cultivos tan diversos como el tomate (*S. lycopersicum*), el algodón (*Gossypium spp*) y el banano (*Musa paradisiaca*) (Nehra et al., 2021).

Las enfermedades patogénicas más severas en el cultivo del tomate están presentes en cada una de las etapas fenológicas como se describen a continuación.

2.2.1 Plántula

Rhizoctonia solani (marchitamiento fúngico) puede verse diferente dependiendo de la etapa de desarrollo de la plántula y sobre las especies implicadas: lesiones húmedas y marrones en las raíces, puede alcanzar la base del tallo, provocando su descomposición; tejido húmedo y blando en la base del tallo. Los tejidos afectados progresivamente se vuelven marrones, los síntomas suceden rápido para marchitarse, colapsar y morir (Blancard, 2012).

2.2.2 Follaje

El tizón afecta cualquier etapa del desarrollo de la planta y puede infectar todas las partes aéreas del tomate, se caracteriza inicialmente por el desarrollo de manchas color marrón en los folíolos (López, 2017). Cuando las condiciones son óptimas, el desarrollo de los síntomas es rápido, hojas, flores, tallos o incluso plantas completas. Eventualmente se vuelven necróticos y mueren, los frutos infectados en una etapa temprana tienen un moteado marrón que es característico de esta enfermedad (Blancard, 2012).

2.2.3 Tallos

Verticillium dahliae produce marchitamiento en las hojas más viejas e inicia desde el margen de un folíolo, en forma de “V” amarilla, luego se vuelve café claro. Las hojas viejas cambian a color amarillo y se secan. Las plantas se mantienen pequeñas y no hay respuesta a la aplicación de fertilizantes o agua. El hongo penetra a las plantas por las raíces e interfiere en el transporte del agua, produciendo un bloqueo de los tejidos vasculares (López, 2017).

2.2.4 Frutos

El hongo *Botrytis cinerea* es un patógeno necrotrófico vegetal que coloniza tejidos vegetales senescentes o muertos y causa moho gris y ablandamiento en las frutas. Sus hifas pueden penetrar los tejidos vegetales a través de heridas o aberturas naturales y diseminarse desde tejidos muertos previamente colonizados a tejidos sanos (El-Oirdi *et al.*, 2011).

2.3 *Fusarium oxysporum*

F. oxysporum es un hongo ascomiceto patógeno transmitido por el suelo que afecta a muchas plantas en el mundo al causar marchitez, este es un síndrome vascular letal en las plantas. Se han identificado más de 100 especies vegetales específicas como hospederas de *F. oxysporum* y se han distribuido en todo el mundo. Es una enfermedad grave, que afecta a una amplia gama de cultivos, por ejemplo en cereales causa pérdidas de rendimiento del 10 al 30 % en Europa. Las legumbres también se ven afectadas negativamente debido a la enfermedad del marchitamiento que asciende aproximadamente al 100% (Nehra *et al.*, 2021). Las pérdidas por *F. oxysporum* en países como la India puede reducir hasta el 45% de la producción total, se han estimado pérdidas en tomate de invernadero de hasta 90% y 95% en Túnez y Canadá, respectivamente, y se ha observado una incidencia del 100% en cultivos de los EE. UU (McGovern, 2015).

F. oxysporum produce la colonización y obstrucción de los vasos del xilema causando la marchitez de las plantas infectadas, además de la secreción de varias toxinas; como el ácido fusárico, la lycomarasmina, el ácido deshidrofusárico, estos son parte importante en el desarrollo y progresión de los síntomas de la marchitez (Srinivas *et al.*, 2019).

El desarrollo de la colonización requiere una serie de pasos biológicos estrictamente controlados: (I) reconocimiento de raíces a través de señales desconocidas del huésped; (II) fijación en la superficie radicular por hifas y diferenciación en estructuras penetrantes; (III) penetración en la corteza de la raíz y degradación de las barreras físicas del hospedador; (IV) adaptación al ambiente hostil creado por tejidos vegetales infectados; (V) proliferación de hifas dentro de los vasos del xilema y secreción de determinantes de virulencia y (VI) producción de microconidios (Catharina y Carels, 2018).

F. oxysporum puede sobrevivir en el suelo en los restos del cultivo albergando micelio, micro y macro conidios y clamidosporas. Se sabe que puede proliferar en muchas plantas pertenecientes a diferentes familias botánicas, varias malezas son hospedantes sin síntomas: *Chenopodium album*, *Solanum nigrum*, *Panicum fasciculatum*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Schinus terebinthifolius*, *Mollugo verticillata*, *Gnaphalium sp.*, *Stellaria media*, *Spergulum arvense*, *Rumex crispus*, *Plantago lanceolata*, *Amaranthus retroflexus*, *Scoparia*

sp., *Capsella bursa-pastoris* y *Polygonum convulvulus*. En los sistemas de agricultura protegida puede estar presente en los sistemas de riego y drenaje, así como en el reciclaje de soluciones nutritivas, se ha demostrado que el hongo puede sobrevivir más de 52 semanas en una solución nutritiva almacenada a temperatura ambiente. Las semillas contaminadas son un medio de propagación, hay evidencia de que el hongo puede persistir por más de 12 semanas en semillas almacenadas (Blancard, 2012).

2.4 Nanotecnología

La nanotecnología es una definición colectiva que se refiere a todas las tecnologías y ciencias que operan a nanoescala. La nanotecnología, con su precisión atómica, tiene la capacidad de construir materiales, dispositivos y sistemas inteligentes (Acharya y Pal, 2020).

La nanotecnología se ha utilizado en muchos campos de la ciencia como la física, la química, la farmacéutica, la medicina y la agricultura (Duhan *et al.*, 2017). En la ingeniería se utiliza para la detección de patógenos en tejidos, detección de plaguicidas y proteínas, rastreo de la estructura del ADN, destrucción de tumores mediante calentamiento (tratamiento de hipertermia), cuantificación analítica de moléculas y células biológicas, como agentes de mejora del contraste de resonancia magnética, entre otras aplicaciones. Los nanomateriales tienen un tamaño pequeño y una alta relación de superficie a volumen que las hace adecuadas para su uso en varios campos (Acharya y Pal, 2020).

En la agricultura, la nanotecnología ha proporcionado varias herramientas agrícolas en forma de nanofertilizantes, nanoplaguicidas y nanosensores que han mostrado resultados positivos para la práctica de la agricultura sostenible (Marchiol *et al.*, 2020). Los nanomateriales encuentran aplicaciones en la protección de las plantas, la nutrición y la gestión de las prácticas agrícolas debido a su pequeño tamaño, su alta relación superficie, volumen y sus propiedades ópticas únicas (Duhan *et al.*, 2017). Podemos afirmar que las agro-

nanotecnologías pueden apoyar un aumento en el rendimiento de los cultivos y una reducción de la contaminación del suelo y agua (Marchiol *et al.*, 2020).

2.4.1 Nanomateriales de carbono

El carbono es uno de los elementos más abundantes y versátiles del planeta y tiene aplicaciones de amplio espectro. Los CNMs tienen características únicas y destacadas, como excelente resistencia mecánica, estabilidad química y térmica, baja densidad, resistencia a la corrosión y dureza, que los hacen competitivo en una variedad de campos comerciales; medicamentos, almacenamiento de energía, microelectrónica, remediación ambiental, biotecnología (Ray *et al.*, 2020). Los CNMs abarcan características físicas, electrónicas y químicas que le confieren la capacidad para absorber otros compuestos o productos químicos (Jordan *et al.*, 2018).

Actualmente es posible encontrar diferentes tipos de nanomateriales de carbono como los fullerenos (3 dimensiones <100 nm), nanotubos de carbono (2 dimensiones <100 nm, CNT), y grafeno y materiales relacionados (1 dimensión <100 nm) (Liné *et al.*, 2017). Los CNT son láminas de grafeno que se enrollaron sobre sí mismas para formar cilindros (concéntricos) con un diámetro nanométrico. Se ha definido dos tipos de CNT: CNT de pared simple (SWCNT) y CNT de paredes múltiples (MWCNT) con más que dos tubos concéntricos. El diámetro de CNT varía desde unos pocos nanómetros para SWCNT hasta varias decenas de nanómetros para MWCNT (Liné *et al.*, 2017).

El grafeno es el material más delgado existente y tiene una excelente estabilidad mecánica, conductividad térmica y propiedades ópticas y de transporte. Está compuesto por una sola capa de átomos de carbono con hibridación sp^2 dispuestos en una estructura de panal (Ray *et al.*, 2020). El grafeno es de naturaleza extremadamente hidrófoba, no es soluble en el disolvente hidrófilo y forma grandes agregados (Abd-Elsalam, 2020).

2.4.2 Nanomateriales en el control de agentes patógenos

En la agricultura se utilizan diversos productos químicos como pesticidas y herbicidas, y se produce diversos tipos de agroquímicos para control de plagas, enfermedades o malezas específicas, estos agroquímicos son muy dañinos para el medio ambiente. La producción de herbicidas, pesticidas y fertilizantes nanoactivos podría ser una alternativa hacia una producción libre de contaminantes, mediante la liberación efectiva de nutrientes y su accesibilidad. Los nanoagroquímicos pueden contribuir a disminuir la toxicidad del suelo producida por la aplicación agroquímicos (Jalil y Ansari, 2020).

Se ha documentado la actividad antifúngica de Óxido de grafeno (GO) contra la cepa PH-1 de *Fusarium graminearum*, este nanomaterial mostro la capacidad para reducir la biomasa micelial y la ramificación, modificando el cambio en la expresión génica de la cepa PH-1 de *F. graminearum* (Seifi y Kamali, 2021).

Wang *et al.* (2014) demostraron que los nanomateriales con SWCNT, MWCNT, GO pueden inhibir la absorción de agua dentro de las esporas de *F. graminearum*, y generar plasmólisis.

También los nanomateriales, regulan positivamente los genes implicados en respuesta a patógenos, lo que significa que las plantas pueden percibir los CNT como un estrés similar al ataque de herbívoros (Liné *et al.*, 2017). Está comprobado que los nanomateriales afectan significativamente la producción de compuestos bioactivos en diferentes plantas y células vegetales, por lo tanto, se pueden emplear como elicitores estándar en células vegetales, tejidos y cultivos de órganos para producir metabolitos valiosos (Khan *et al.*, 2019).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Establecimiento del experimento

El experimento se realizó en el vivero perteneciente al Departamento de Botánica, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Ubicado en las coordenadas N 25° 21' 01.22" W 101° 01' 27.59", en un invernadero exclusivo para patógenos de tipo túnel, con cubierta de polietileno, ventilación natural, orientación norte-sur.

3.2 Material vegetal

Se utilizó semillas de tomate tipo saladette de la variedad Cid F1 (Harris Moran, Davis, CA, USA), de crecimiento indeterminado.

3.3 Características de los nanomateriales de carbono

Se utilizaron nanotubos de carbono de pared múltiple (CNT), con una pureza de 95 %, diámetro de 40 nm y largo de 15 µm. Y láminas de grafeno GP con pureza de 97 % diámetro de 2 µm y grosor de 10 nm.

3.4 Desarrollo del cultivo

El experimento se realizó mediante el trasplante de plántulas de tomate en bolsas de poliestireno de 20 L. Se utilizó como sustrato una mezcla de peat

moss-perlita en proporción 1:1 con base a volumen. Para la aplicación del riego se utilizó un sistema de riego dirigido con solución Steiner (Steiner, 1961). De acuerdo a cada etapa fenológica. El pH de la solución nutritiva se ajustó con ácido sulfúrico concentrado a un valor de 6.5 para favorecer la absorción de nutrimentos. El cultivo se desarrolló durante 120 días, los tratamientos aplicados fueron nanotubos de carbono de pared múltiple (CNT) a concentraciones de (50 y 100 mg L⁻¹) y láminas de grafeno (GP) a concentraciones de (250 y 500 mg L⁻¹) estos inoculados con *F. oxysporum*, un control positivo inoculado con *F. oxysporum* y un control negativo (T0).

La inoculación de *F. oxysporum* se realizó en el trasplante sumergiendo la raíz de las plantas en una solución que contenía 1×10⁻⁷ esporas por mL.

La primera aplicación de los tratamientos se realizó a dos semanas después del trasplante (ddt), posteriormente las siguientes aplicaciones se realizaron en intervalos de cada 15 días, para un total de cinco aplicaciones.

Esta se realizó vía suelo tomando 10 mL de cada solución y se colocó de manera uniforme alrededor de la base del tallo de cada planta. El testigo absoluto se trató con agua destilada.

Para la evaluación del crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate se realizaron mediciones, cada 15 días (ddt). Se midió altura de planta (flexómetro), diámetro de tallo (vernier digital) y se contabilizó el número de hojas.

Al momento de la cosecha se evaluó la biomasa fresca, peso fresco de tallo y hojas (g), se utilizó una balanza digital (OHAUS Modelo Adventurer Pro). El peso seco de tallo y hojas (g) se obtuvo al secar las muestras, en una estufa de secado marca Drying Oven modelo DHG9240A durante 72 h a una temperatura constante de 90°C.

3.5 Evaluación y severidad de *F. oxysporum*

La severidad en las plantas de tomate se determinó de acuerdo a la escala de (Diener y Ausubel, 2005) donde se define como:

0. Sin síntomas visibles (0%).

1. Peciolos de hojas con crecimiento detenido (20%).
2. Hojas viejas con clorosis vascular y hojas jóvenes con crecimiento detenido (40%).
3. Hojas viejas cloróticas y hojas jóvenes con crecimiento detenido (60%).
4. Hojas viejas muertas y hojas jóvenes con clorosis vascular (80%).
5. Planta muerta (100%).

3.6 Variables bioquímicas

71 días después del trasplante (ddt) se tomaron muestras al azar de la cuarta hoja completamente expandida y se conservaron a -20 °C en ultra congelador.

Posteriormente las muestras se fraccionaron en vasos de plástico de 25 mL y se sometieron a liofilización a -20 °C y 20 Pa. Durante una semana.

3.6.1 Compuestos fenólicos

Se determinó mediante el método del reactivo Folin-Ciocalteu descrito por (Yu y Dahlgren, 2000) con algunas modificaciones:

1. 0.2 g de muestra se extrajo con 1 mL de solución agua: acetona (1:1).
2. La mezcla se homogeneizó en vórtex durante 30 segundos y sónico por 5 minutos.
3. Las muestras se centrifugaron en una centrífuga (OHAUS Frontier Modelo FC5515 R) a 12,500 RPM durante 10 minutos a cuatro grados centígrados.
4. Para la cuantificación se tomó una alícuota de 0.05 mL, se añadió 0.2 mL de reactivo Folin-Ciocalteu, 0.5 ml de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20% y 0.2 mL de agua destilada.
5. Se homogeneizó en vórtex durante 30 segundos.
6. Se sometió a baño maría a 45° C durante 30 minutos y se midió absorbancia a 750 nm en espectrofotómetro UV-Vis (UV-Vis (UNICO Spectrophotometer Modelo UV2150) con celdilla de cuarzo usando agua:acetona como blanco.

7. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso seco (mg de EAG 100 g⁻¹ PS).

3.6.2 Flavonoides

Se llevó a cabo utilizando el método de Dowd adaptado por (Arvouet-Grand *et al.*, 1994)

1. Para la extracción de estos, se colocaron 0.2 g de tejido liofilizado en un microtubo, donde se agregaron 2 mL de metanol de grado reactivo.
2. Se homogeneizó en vórtex durante 30 segundos.
3. La mezcla se filtró usando el papel Whatman No. 1.
4. Para la cuantificación, se tomó una alícuota de 1 mL del extracto, se agregaron 2 mL de solución metanólica de tricloruro de aluminio (AlCl₃) al 2 % en un microtubo y se dejó reposar durante 20 minutos en la oscuridad.
5. Transcurrido en tiempo se tomó la lectura en un espectrofotómetro UV-Vis (UV-Vis (UNICO Spectrophotometer Modelo UV2150). A una longitud de onda de 415 nm utilizando una celdilla de cuarzo.
6. El contenido de flavonoides se expresó en miligramos equivalentes de quercetina por 100 g de peso seco (mg EQ 100 g⁻¹ PS).

3.6.3 Ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico o vitamina C se determinó por el método de (Hung y Yen, 2002):

1. Se pesaron 10 mg de tejido liofilizado de hojas y se colocaron en un microtubo.
2. Se agregó 1 mL de ácido metafosfórico al 1 % y se filtró con papel Whatman N° 1.
3. Posteriormente se recolectó 0.2 mL de la extracción y se agregó 1.8 mL de 2-6 diclorofenolindofenol (50 µM) y se dejó a temperatura ambiente por 15 segundos.

4. La cuantificación se realizó por espectrofotometría (UNICO Spectrophotometer Modelo UV2150) a una longitud de onda de 515 nm en una celdilla de cuarzo. Para el blanco se utilizó ácido metafosfórico.
5. Los valores se obtuvieron a partir de la curva de calibración preparada con ácido ascórbico (0-50 mg L⁻¹).
6. Los resultados se expresaron en mg g⁻¹ de peso seco de ácido ascórbico.

3.7 Calidad de fruto

71 días después del trasplante (ddt) se tomaron muestras de fruto del segundo racimo e inmediato se evaluó firmeza utilizando un penetrómetro (WAGNER Force Dial FDK 2). Este mismo fruto fue macerado con un mortero y utilizado para evaluar el contenido de sólidos solubles totales °Brix utilizando un refractómetro (ATAGO, 1-425-637-2107), pH y conductividad eléctrica (CE) con un potenciómetro (OHAUS, STARTER3100m) y potencial de óxido reducción (ORP) (HANNA, HI98130).

3.8 Análisis estadístico

Para la evaluación de las variables agronómicas se consideraron 6 repeticiones por tratamiento y para las variables bioquímicas 6 repeticiones por tratamiento. Se usó un diseño en cuadro latino. El análisis de varianza y prueba de medias de Fisher ($p \leq 0.05$) se realizaron en el software Infostat versión 2018. Además, se realizó un análisis multivariado de varianza (MANOVA) y la prueba de Hotelling ($\alpha = 0.05$) sobre la incidencia y severidad de *F. oxysporum*.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

La incidencia de *F. oxysporum* en plantas de tomate disminuyó con la aplicación de nanomateriales (Fig. 1A). El menor porcentaje de incidencia se observó en el tratamiento con CNT 100 mg L⁻¹ seguido del GP 250 mg L⁻¹ y CNT 50 mg L⁻¹ con 44 %, 50 % y 56 % respectivamente. La alta concentración de grafeno (500 mg L⁻¹) obtuvo la mayor tasa de incidencia 67 % de los tratamientos evaluados. Mientras que el control positivo tuvo una incidencia del 100 %.

La severidad de *F. oxysporum* en plantas de tomate disminuyó con la aplicación de ambos tratamientos de nanomateriales (Fig. 1B). Todos los tratamientos fueron significativamente inferiores al control positivo. El tratamiento con CNT 100 mg L⁻¹ fue un 56 % menos severo que el control positivo; seguido de CNT 50 mg L⁻¹ con un 47 % menos de gravedad que el control positivo.

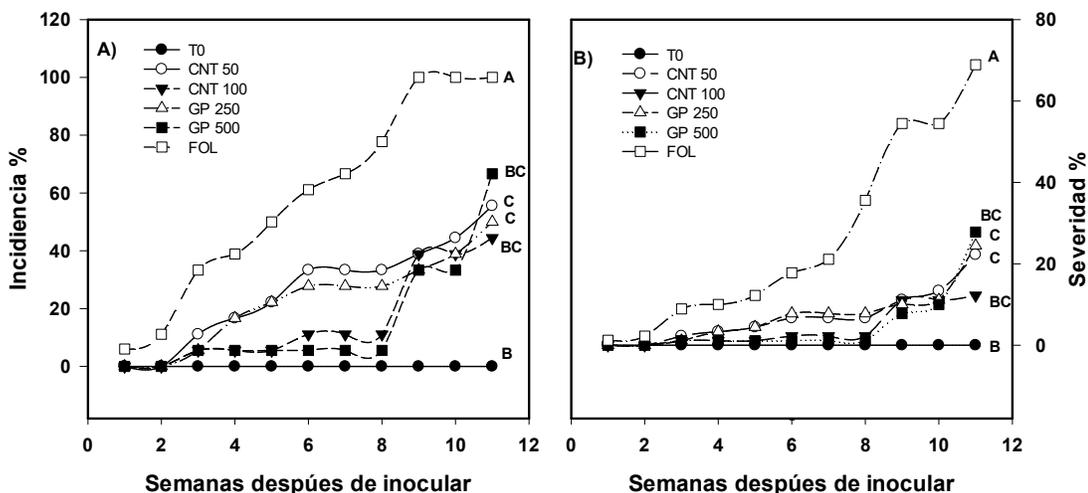


Figura 1. Incidencia (A) y Severidad (B) de *F. oxysporum* en el cultivo de tomate. T0: control; CNT: nanotubos de carbono; GP: grafeno; FOL: Control positivo inoculado con *F. oxysporum*; 50, 100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de Hotelling ($\alpha = 0.05$).

La altura de planta se modificó con la aplicación de nanomateriales (Fig. 2). El tratamiento con mayor altura fue 50 mg L⁻¹ de CNT, que superó en 13 % a FOL, seguido de GP 250 mg L⁻¹ y GP 500 mg L⁻¹ con un incremento de 11 y 8 % con respecto a FOL.

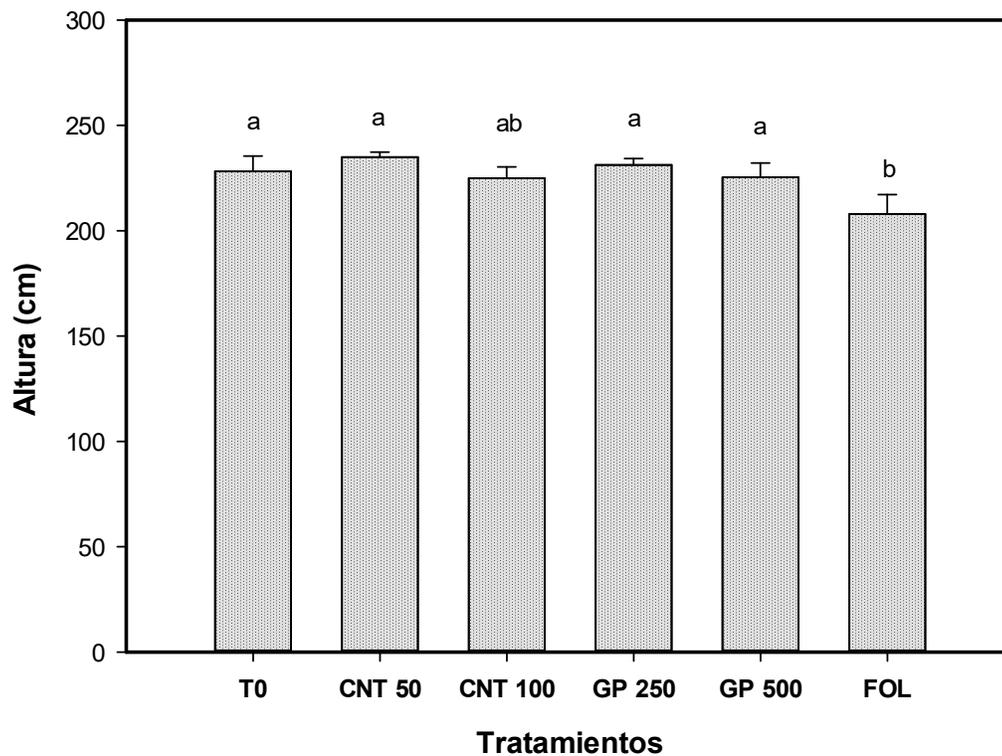


Figura 2. Altura de plantas del cultivo de tomate; T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=005$). n = 6 \pm error estándar.

Los nanomateriales de carbono modificaron el diámetro de tallo. (Fig. 3). El tratamiento que más incremento esta variable fue CNT 100 mg L⁻¹, superando a FOL en 10 % y T0 en 14 %, el resto de los tratamientos se comportaron estadísticamente iguales a los testigos.

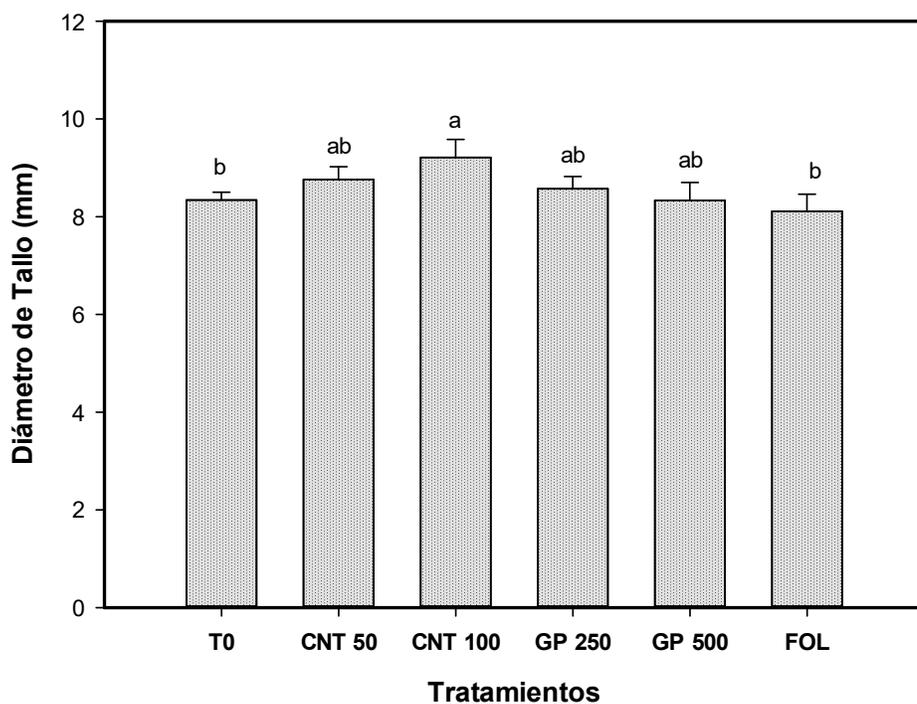


Figura 3. Diámetro del tallo de plantas de tomate; T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=005$). n = 6 \pm error estándar.

El número de hojas incremento con la aplicación de nanomateriales (Fig. 4). El tratamiento con mayor número de hojas es T0 con un aumento del 12 % con respecto a FOL. También GP 250 mg L⁻¹ se incrementó 11 % con respecto a FOL, el resto de los tratamientos se comportaron estadísticamente iguales.

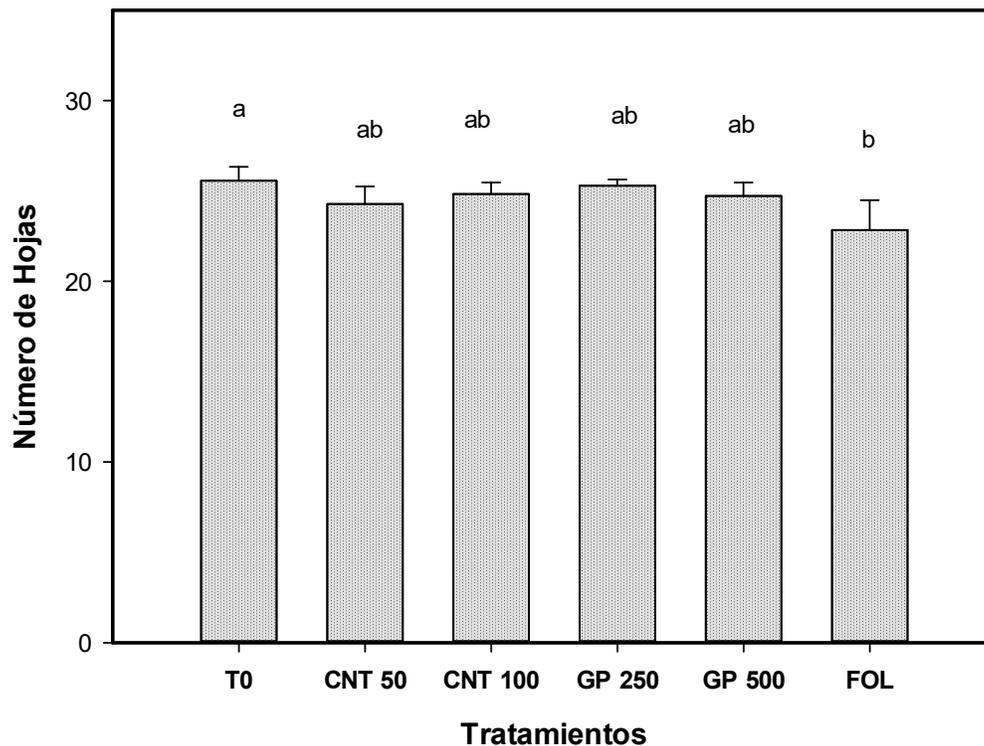


Figura 4. Número de hojas de plantas de tomate; T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=0.05$). n = 6 \pm error estándar.

La aplicación de nanomateriales aumento la biomasa fresca en plantas de tomate (Fig. 5). En comparación con FOL, todos los tratamientos obtuvieron un mayor porcentaje en la biomasa final, T0 obtuvo la mayor biomasa final de 71 %, seguido del tratamiento CNT 100 mg L⁻¹ con una diferencia de biomasa final del 33 % con respecto a FOL.

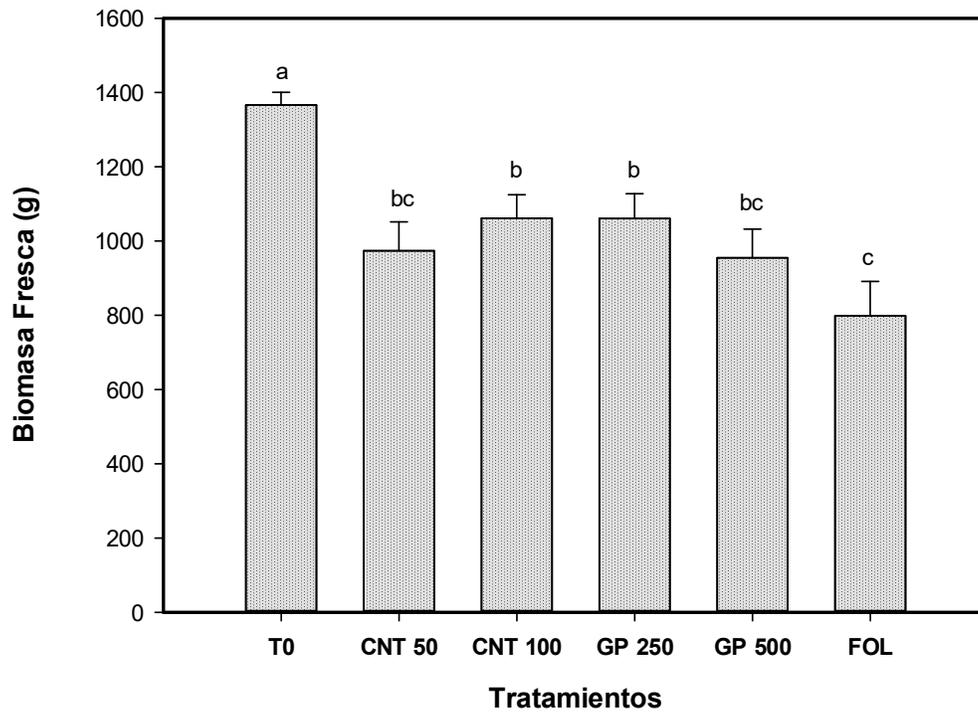


Figura 5. Biomasa fresca de plantas de tomate; T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=05$). n = 6 \pm error estándar.

El número de frutos se modificó con la aplicación de nanomateriales (Fig. 6). El tratamiento que obtuvo el mayor rendimiento fue T0 incrementando 30 % más que FOL, sin embargo cuando se aplicaron ambas dosis de CNT 50 y 100 mg L⁻¹ se incrementó el rendimiento 17 % y 15 % en comparación con FOL.

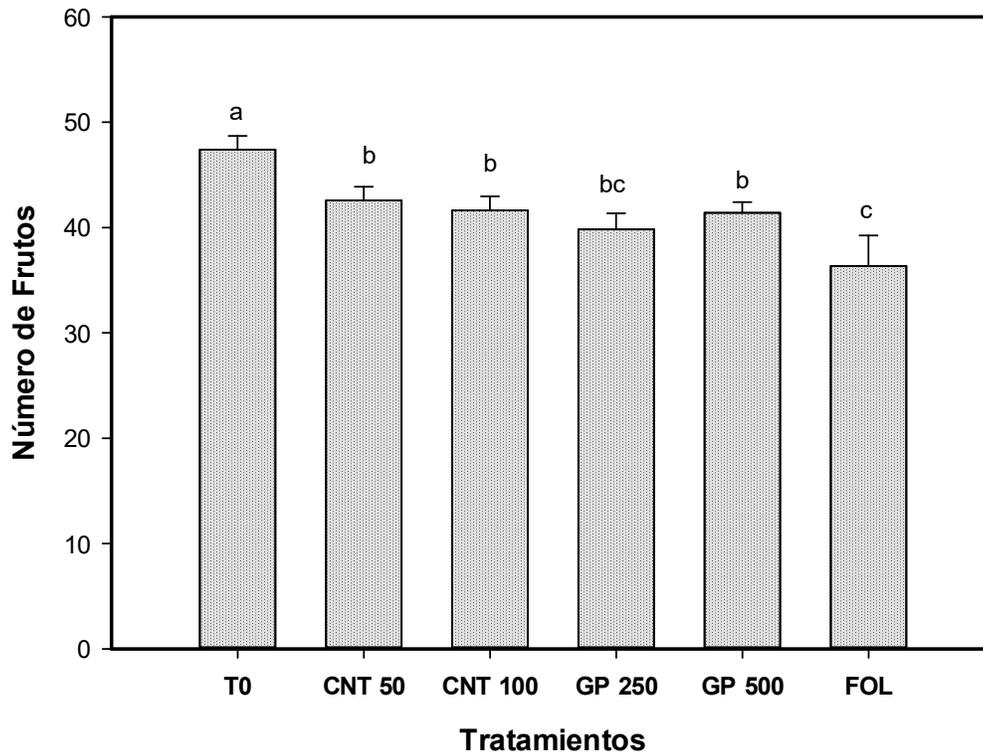


Figura 6. Número de frutos de plantas del cultivo de tomate; T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=005$). n = 6 ± error estándar.

El contenido de fenoles se modificó generalmente de manera negativa con la aplicación de nanomateriales, hubo una disminución en el contenido de estos compuestos cuando se aplicaron ambas dosis de grafeno, ya que 250 mg L⁻¹ disminuyó 33 % y 500 mg L⁻¹ 34 % con respecto a FOL. También cuando se aplicó 100 mg L⁻¹ se observó un decrecimiento de 13 % en comparación con FOL. El tratamiento superior en el contenido de estos compuestos fue T0.

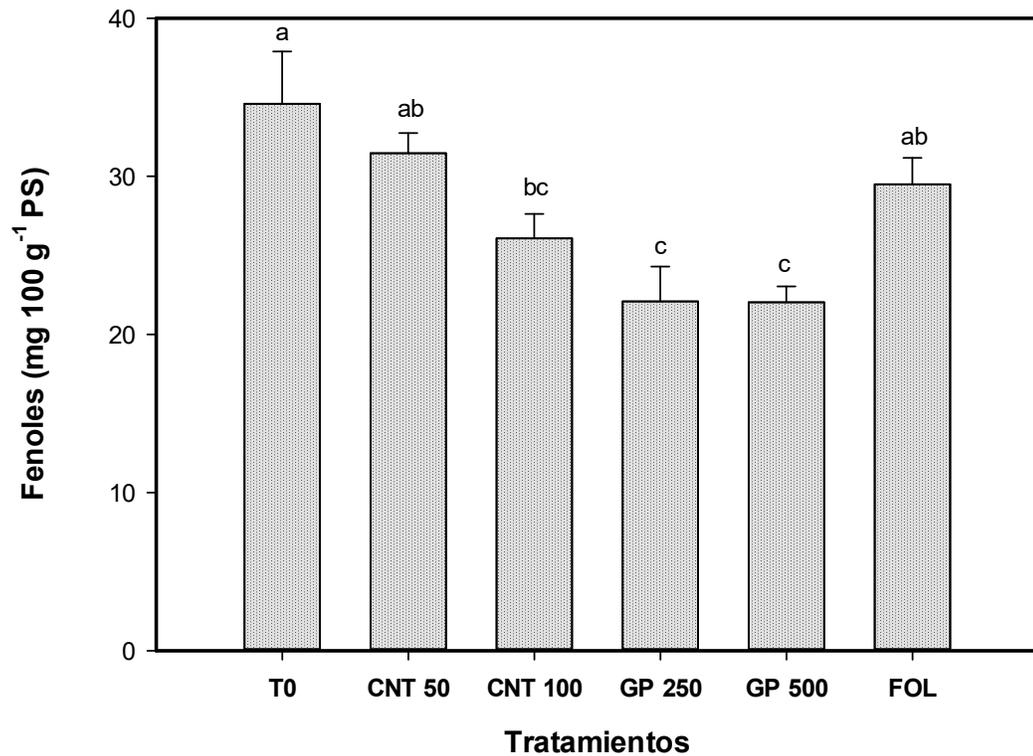


Figura 7. Contenido de fenoles en hojas de tomate; T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=0.05$). $n = 6 \pm$ error estándar.

En el caso de los flavonoides, no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos, sin embargo se observa una tendencia positiva con la aplicación de 100 mg L⁻¹ de CNT ya que incrementó 9 % y 10 % más que FOL y T0 respectivamente.

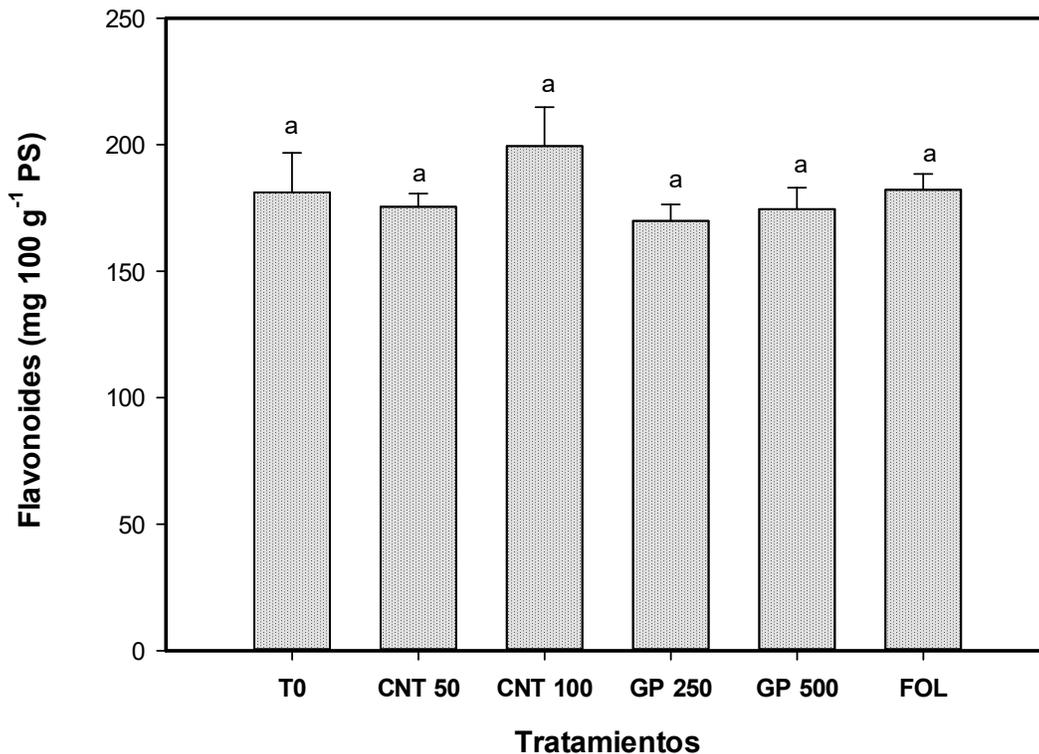


Figura 8. Contenido de flavonoides en hojas de tomate; T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=005$). $n = 6 \pm$ error estándar.

Los nanomateriales modificaron el contenido de vitamina C. (Fig. 9). El tratamiento que más incremento este compuesto fue CNT 100 mg L⁻¹, seguido de CNT 50 mg L⁻¹, ambos superando a FOL 43 % y 27 %, también a T0 en 40 % y 23 %. Aunque en menor medida que CNT, ambas dosis de grafeno incrementaron el contenido de vitamina C, cuando se aplicó la dosis más alta de este nanomaterial 500 mg L⁻¹ se observó un incremento de 14 %, mientras que la dosis baja 250 mg L⁻¹ fue superior en 5 % ambas con respecto a FOL.

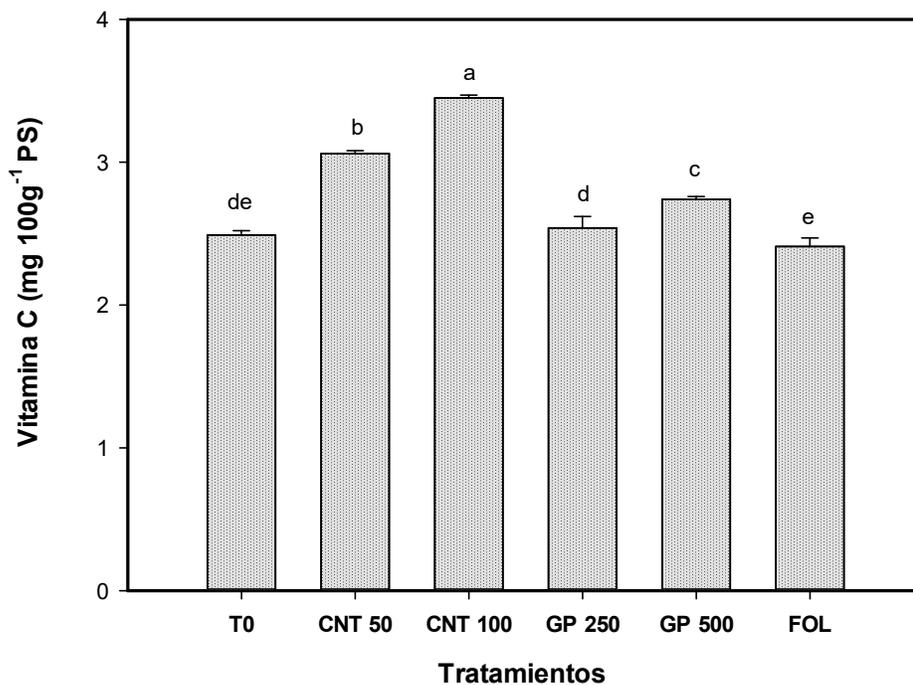


Figura 9. Contenido de ácido ascórbico en hojas de tomate; T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=005$). $n = 6 \pm$ error estándar.

El potencial de óxido reducción (ORP) se modificó con la aplicación de nanomateriales (Fig.10A). El tratamiento más significativo GP 500 mgL⁻¹ con una diferencia con respecto a FOL y T0 de -7.8 % y -8.9 % seguido de CNT 50 mg L⁻¹ mostraron diferencias con respecto a FOL y T0 de 58.7 % y 66.56 % los demás tratamientos se comportaron estadísticamente igual.

También la conductividad eléctrica se modificó con la aplicación de los tratamientos (Fig.10B). El tratamiento más significativo fue T0 con respecto a FOL, con una diferencia de 75 %, los demás tratamientos se comportaron estadísticamente igual.

El contenido de solubles totales (°Brix), se modificó con la aplicación de nanomateriales (Fig.10C). El tratamiento más significativo fue GP 500 mgL⁻¹ con una diferencia con respecto a FOL y T0 de 109.3 % y 114.6 % respectivamente.

La aplicación de nanomateriales modificó el pH (Fig.10D). El tratamiento más representativo fue FOL, con una diferencia con respecto a T0 de 96.29 % seguido de GP 250 mg L⁻¹ con una diferencia con respecto a FOL de 95.88 %, pero estadísticamente igual que T0.

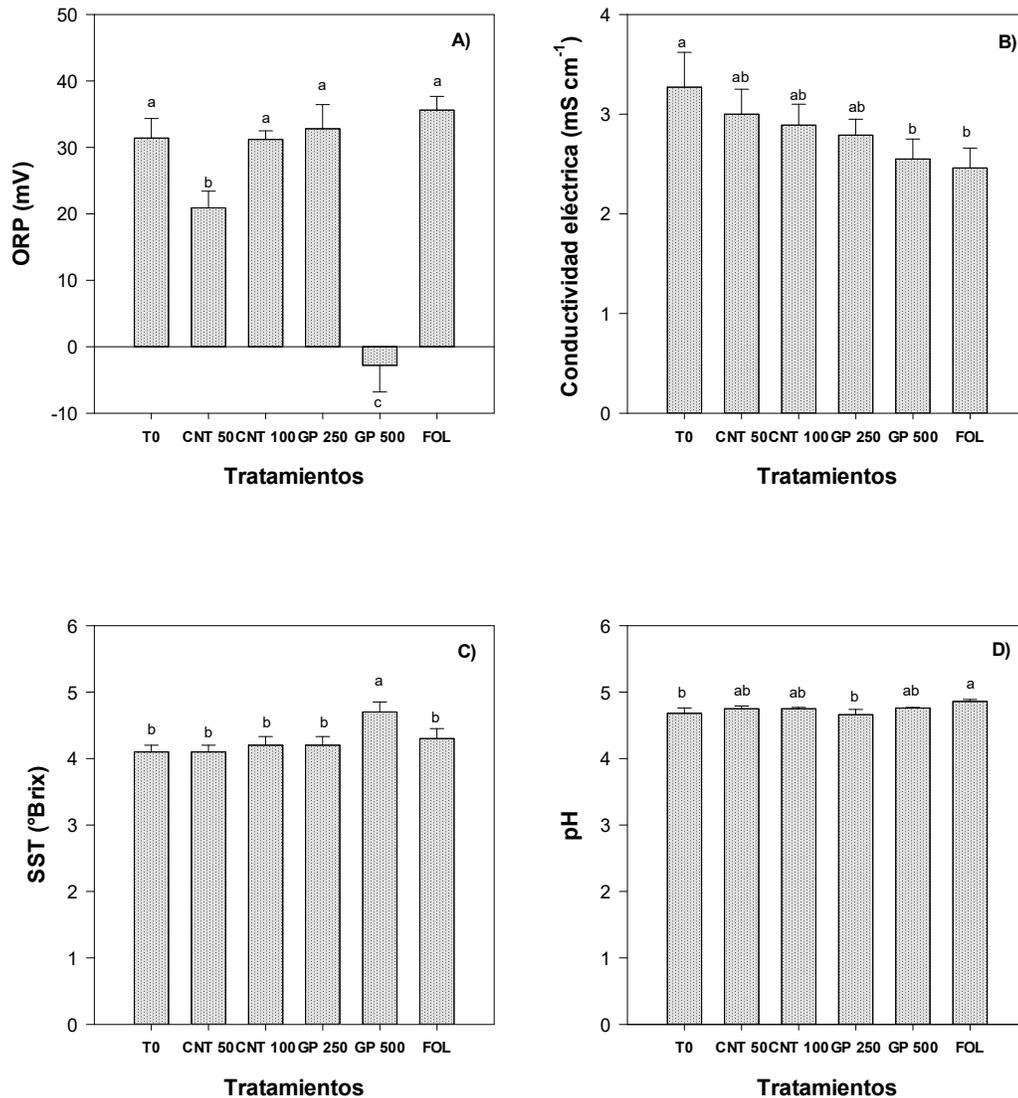


Figura 10. Calidad de fruto de tomate. Potencial de óxido reducción (ORP) (A); Conductividad eléctrica (B); Solidos solubles totales (SST) (C); Potencial de hidrogeno (pH) (C); T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50,100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=005$). n = 6 \pm error estándar.

Se modificó el peso del fruto con la aplicación de nanomateriales (Fig. 11A). Todos los tratamientos fueron significativamente diferentes con respecto a FOL, el tratamiento que muestra diferencias con respecto a FOL y a T0 es GP 250 mg L⁻¹ con una diferencia de 79.46 % y 97.77 %.

La aplicación de nanomateriales no mostro diferencia significativa en firmeza del fruto y diámetro polar (Fig. 11B, C).

Se modificó el diámetro ecuatorial con la aplicación de nanomateriales (Fig. 11D). El mejor tratamiento fue T0 con una diferencia de 83.33 % con respecto a FOL. Todos los tratamientos se comportaron estadísticamente igual.

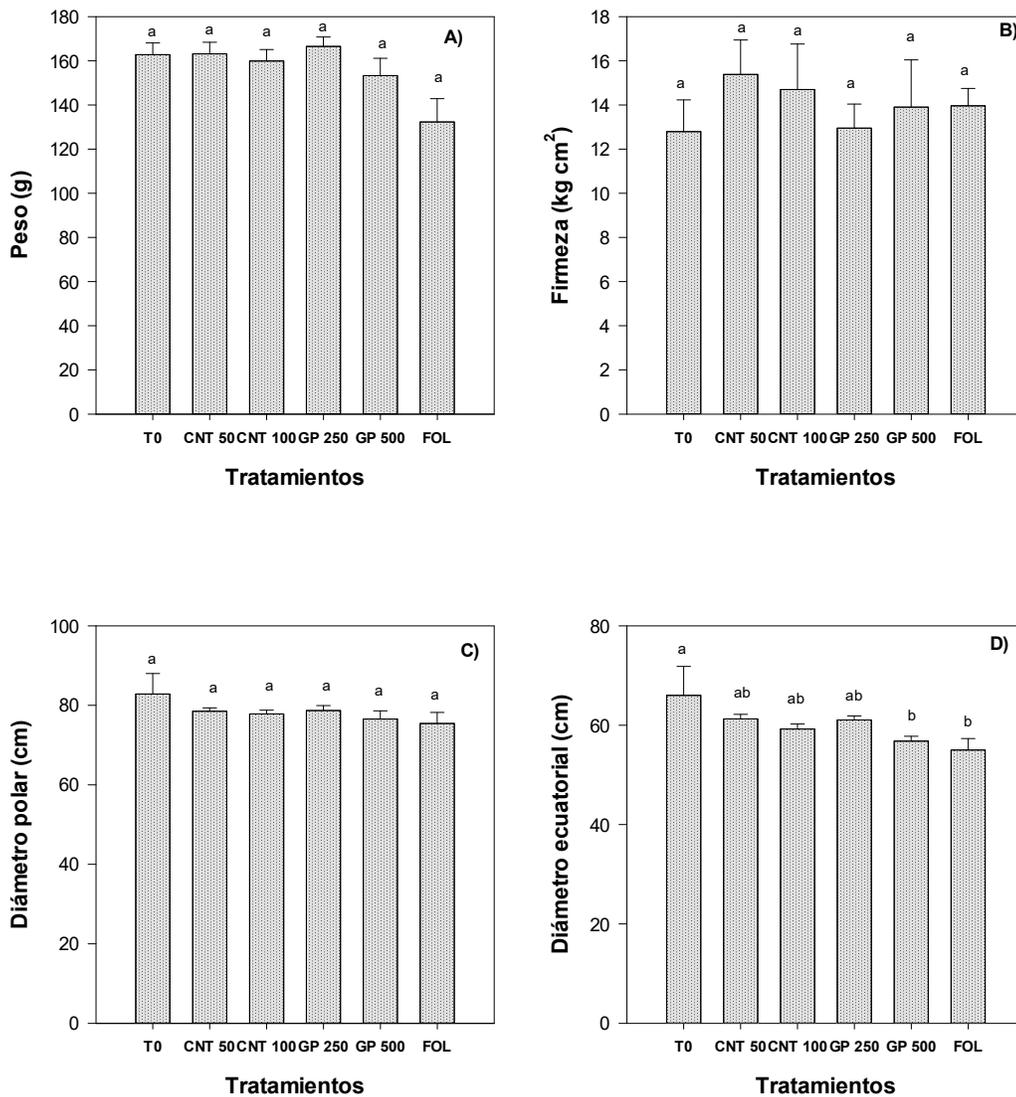


Figura 11. Calidad de fruto de tomate. Peso (A); Firmeza (B); Diámetro polar (C); Diámetro ecuatorial (D); T0: control; CNT: Nanotubos de Carbono; G: Grafeno; FOL: *F. oxysporum*; 50, 100, 250 y 500 representan los mg L⁻¹ aplicados de cada nanomaterial de carbono. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos según Fisher ($\alpha=005$). n = 6 \pm error estándar.

V. DISCUSION

Diversos estudios han informado de que los nanomateriales tienen importantes propiedades antimicrobianas contra una amplia gama de microorganismos patógenos (Baker *et al.*, 2019). Los CNT tienen una fuerte actividad antimicrobiana que implica daño físico y químico. El daño físico es a través del contacto directo causando daño a la membrana y modificaciones en la morfología celular que generan fugas de material citoplásmico, liberación de enzimas y electrolitos y degradación de lípidos que resultan en la muerte celular del microorganismo. La llamada "captura de microorganismos" es otro mecanismo antibacteriano de los nanomateriales de carbono, ya que sus estructuras laminares pueden interactuar con las bacterias y cubrir fácilmente sus superficies, bloquear los sitios activos y disminuir la viabilidad de los microorganismos, ya que están atrapados e inactivos ya que permanecen aislando de su entorno y no puede proliferar (González-García *et al.*, 2021).

La disminución de la incidencia y severidad puede estar relacionada en función de las propiedades de los CNMs, como fuerza de Waals y el estado de dispersión, esto determina su eficacia antifúngica contra las esporas (Wang *et al.*, 2014). La fuerza de Waals consiste en fuerzas intermoleculares atractivas o repulsivas, o la atracción electrostática entre iones y otras moléculas (Esquivel Sirvent, 2015). Los CNMs pueden inhibir la germinación de las esporas ya que intervienen en el proceso de absorción del agua antes de inducir la plasmólisis. A nivel genético, los CNT parecen regular positivamente los genes implicados en la división celular y formación de la pared celular en plantas de tomate. Al mismo tiempo regularizan positivamente los genes implicados en respuesta a patógenos, lo que significa que las plantas pueden percibir los CNT como un estrés similar al ataque de herbívoros (Liné *et al.*, 2017). Los diferentes tipos de nanomateriales de carbono como el grafeno, el óxido de grafeno, los fullerenos y los nanotubos poseen una gran capacidad de innovación adsorbentes para la reducción de micotoxinas (Abd-Elsalam, 2020).

Los CNT pueden aumentar los pelos radiculares, la densidad radicular y el número de estomas, que podría ser vital para la absorción de agua y favorecer el estado hídrico de las hojas para mejorar el crecimiento general de la planta (Joshi *et al.*, 2018). La presencia de varios nanomateriales como CNT en el suelo estimula y mejora los niveles endógenos de fitohormonas en plantas como ácido indol-3-acético, brasinolida, giberelinas y citoquininas (Patel *et al.*, 2019). Además los CNMs pueden incrementar las acuaporinas o canales de agua. Esto implica que las plantas tratadas con CNT pueden absorber más agua y, por lo tanto, estar mejor preparadas para alguna condición de estrés (Jordan *et al.*, 2018). Los CNT pueden crear nuevos poros para permeación de agua y mejorar la función capilar del agua (Joshi *et al.*, 2018). Las acuaporinas son componentes centrales en las relaciones agua-planta, ya que están involucradas en absorción de agua de la raíz, germinación de las semillas, alargamiento de las células, reproducción y fotosíntesis. La sobreexpresión de genes de acuaporinas puede contribuir al crecimiento celular que conduce a un mayor crecimiento de la planta. (Liné *et al.*, 2017).

También se ha demostrado que la aplicación de CNT, mejora la inducción de callos a partir de explantes de hojas de *Satureja khuzestanica*, ya que permiten la regulación al alza de diferentes genes implicados en el proceso de división celular y elongación de la pared celular (Khan *et al.*, 2019). Se ha comprobado que los CNT en dosis bajas provocan el patrón de crecimiento en las plantas, se ha informado que la aplicación de SWCNT mejora el crecimiento de las plántulas en muchas especies como el maíz (*Zea mays*), las higueras (*Ficus carica*) y las plántulas de tomate (*S. lycopersicum*) (Majeed *et al.*, 2020). Así mismo, se ha demostrado que la aplicación de CNT aumenta la duplicación del cuajado de flores y rendimiento en tomate (Patel *et al.*, 2019). En el cultivo del tomate los efectos de los MWCNT van más allá de la germinación y el crecimiento temprano e incluyen efectos sobre la etapa reproductiva del desarrollo de las plantas. Se ha informado la duplicación en formación de flores y el rendimiento en el tomate después de la aplicación de MWCNT en el suelo (Majeed *et al.*, 2020).

Los CNMs, pueden viajar en la planta hasta llegar al cloroplasto donde pueden inducir la producción de clorofilas y carotenoides, y a la vez pueden actuar como fuente de carbono que facilita la fijación de carbono y aumenta la velocidad de

transporte de electrones, induciendo así una mejora en la fotosíntesis (González-García *et al.*, 2021). Se ha demostrado el impacto positivo de los nanomateriales en fotosíntesis y biosíntesis de pigmentos fotosintéticos. Por ejemplo, el tratamiento de semillas de tomate (*S. lycopersicum*) con nanomateriales de dióxido de titanio (TiO₂) produjo plantas de tomate más vigorosas con una tasa fotosintéticas tres veces más alta, y un aumento del 45 % en el contenido de clorofila (Hatami *et al.*, 2016).

Por otro lado, los nanomateriales, pueden emplearse para inducir y aumentar la producción de metabolitos secundarios como los ácidos fenólicos que son poderosos antioxidantes que pueden mediar en la eliminación especies reactivas de oxígeno (ROS) en plantas sometidas a estrés biótico y abiótico están involucrados en la biosíntesis de lignina y le confieren a las plantas una barrera de protección contra patógenos o herbívoros (Singh *et al.*, 2020). La activación del sistema antioxidante de una planta es el resultado de la estimulación de la vía fenilpropanoide, que induce la síntesis de ácidos fenólicos como los ácidos cafeico, cinamilmálico, gálico, ferúlico y vainílico (Šamec *et al.*, 2021). La aplicación de nanomateriales de óxido de aluminio (Al₂O₃) aumentaron significativamente el contenido de compuestos fenólicos en cultivo de tabaco en suspensión celular (Khan *et al.*, 2019).

Estudios realizados por González-García *et al.*, (2019) demostraron que se puede incrementar el número de flavonoides en plantas de tomate al aplicar nanotubos de carbono y grafeno en concentraciones de 100 mg L⁻¹. También se ha reportado que MWCNT a una concentración de 100 µg mL⁻¹ incrementaron el contenido de flavonoides (Hatami *et al.*, 2016).

El ácido ascórbico (AsA) es un antioxidante no enzimático, que interviene en los procesos de las plantas relacionados con el estrés (Li *et al.*, 2020). AsA juega un papel esencial en la defensa contra la deficiencia de agua mediante la desintoxicación enzimática del peróxido de hidrógeno y la captura directa de ROS (Aziz *et al.*, 2018). Se ha informado que en *Glycine max* bajo estrés salino y con la aplicación de nanomateriales de SiO₂ se incrementó el contenido de ácido ascórbico y α-tocoferol (Farhangi-Abriz y Torabian, 2018). En *Moringa peregrina*, el contenido de vitaminas C y E aumentó con una mayor actividad de POD y SOD al aplicar NP de ZnO (Amira *et al.*, 2015).

Una de las principales características del patógeno *F. oxysporum*, es el marchitamiento de la planta inducido por la obstrucción de los haces vasculares, provocando déficit hídrico (Nehra *et al.*, 2021). Este déficit, induce una disminución en la conductancia estomática de las hojas, lo que resulta en una disminución en la fotosíntesis produciendo una reducción del transporte de metabolitos primarios a los frutos, induciendo el estrés oxidativo, las especies reactivas de oxígeno influyen directa e indirectamente en las vías biosintéticas de los metabolitos secundarios en el fruto (Ripoll *et al.*, 2016). Una vez que la cosecha de tomate tuviera un déficit hídrico, la planta controlaría algunas actividades metabólicas, como el ajuste osmótico, para reasignar preferentemente más sacarosa a los órganos de reserva y aumentar la tasa de transformación de ácidos orgánicos. En consecuencia, aumentaría el gradiente de concentración de sacarosa entre las hojas y los frutos (Lu *et al.*, 2019). Se sabe que la división celular, la expansión celular, los ajustes osmóticos y la síntesis de compuestos antioxidantes son respuestas que se pueden tener con un déficit hídrico, que pueden ser inducidas más o menos intensamente durante ciclos de desarrollo específicos, en consecuencia pueden tener diferentes efectos acumulados sobre la calidad final de la fruta (Ripoll *et al.*, 2016).

El sabor de la fruta está determinado principalmente por la proporción de azúcar soluble, ácido orgánico y contenido de azúcar/ácido, se ha documentado que el aumento por estrés hídrico disminuye la absorción de agua en el tomate y aumenta la concentración de solutos en la savia, por consecuencia aumentan los azúcares en la fruta (Lu *et al.*, 2021).

Diversos estudios han reportado que los nanomateriales pueden aumentar la calidad de fruto, por ejemplo (Pinedo-Guerrero *et al.*, 2017) demostraron que NPs de Cu pueden incrementar firmeza y SST en plantas de chile jalapeño (*Capsicum annuum*). También López-Vargas *et al.* (2018) reportaron que las NPs de Cu a 250 mg L⁻¹ incrementaron SST, firmeza y disminuyeron el OPR en el cultivo de tomate (*S. lycopersicum*), un ORP con valores bajos indica una mejor calidad de la fruta, lo que puede traducirse en un mayor potencial antioxidante.

VI. CONCLUSIONES

La aplicación de nanomateriales de carbono disminuyó la incidencia y severidad de *F. oxysporum*, en el cultivo del tomate. Además de mejorar parámetros de crecimiento como la altura de la planta, diámetro de tallo, número de hojas, biomasa fresca y número de frutos.

La aplicación de CNT en las plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* incrementó el contenido de vitamina C, además de favorecer los parámetros de calidad de fruto como ORP y SST.

VII. LITERATURA CITADA

- Abd-Elsalam, K. A. (2020). Carbon nanomaterials: 30 years of research in agroecosystems. *In Carbon Nanomaterials for Agri-Food and Environmental Applications*. (pp. 1–18). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819786-8.00001-3>
- Abd-Elsalam, K. A., Kasem, K., & Almoammar, H. (2020). Carbon nanomaterials (CNTs) phytotoxicity: Quo vadis? *In Carbon Nanomaterials for Agri-Food and Environmental Applications*. (pp. 557–581). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819786-8.00024-4>
- Acharya, A., & Pal, P. K. (2020). Agriculture nanotechnology: Translating research outcome to field applications by influencing environmental sustainability. *NanoImpact*, 19(June). <https://doi.org/10.1016/j.impact.2020.100232>
- Álvarez-Hernández, J. C. (2012). Comportamiento agronómico e incidencia de enfermedades en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) injertadas. *Acta Agronomica*, 61(2), 117–125.
- Amira, S. S., Souad, A. E. feky, & Essam, D. (2015). Alleviation of salt stress on *Moringa peregrina* using foliar application of nanofertilizers. *Journal of Horticulture and Forestry*, 7(2), 36–47. <https://doi.org/10.5897/jhf2014.0379>
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., & Legret, P. (1994). Standardisation d'un extrait de propolis et identification des principaux constituants. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49(6), 462–468.
- Aziz, A., Akram, N. A., & Ashraf, M. (2018). Influence of natural and synthetic vitamin C (ascorbic acid) on primary and secondary metabolites and associated metabolism in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants under water deficit regimes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123(September 2017), 192–203. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.004>

- Baker, S., Satish, S., Prasad, N., & Chouhan, R. S. (2019). Nano-agromaterials: Influence on plant growth and crop protection. In *Industrial Applications of Nanomaterials* (pp. 341–363). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815749-7.00012-8>
- Blancard, D. (2012). Principal Characteristics of Pathogenic Agents and Methods of Control. *Tomato Diseases*, 413–650. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-387737-6.50003-0>
- Catharina, L., & Carels, N. (2018). Specific enzyme functionalities of *Fusarium oxysporum* compared to host plants. *Gene*, 676, 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.07.003>
- Diener, A. C., & Ausubel, F. M. (2005). Resistance to *Fusarium oxysporum* 1, a dominant *Arabidopsis* disease-resistance gene, is not race specific. *Genetics*, 171(1), 305–321. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.042218>
- Duhan, J. S., Kumar, R., Kumar, N., Kaur, P., Nehra, K., & Duhan, S. (2017). Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture. *Biotechnology Reports*, 15, 11–23. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.03.002>
- El-Oirdi, M., El-Rahman, T. A., Rigano, L., El-Hadrami, A., Rodriguez, M. C., Daayf, F., ... Bouarab, K. (2011). *Botrytis cinerea* manipulates the antagonistic effects between immune pathways to promote disease development in Tomato. *Plant Cell*, 23(6), 2405–2421. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.083394>
- Esquivel Sirvent, R. (2015). La fuerza del vacío. El efecto Casimir. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 4(1), 23–32. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2011.1.50987>
- Farhangi-Abriz, S., & Torabian, S. (2018). Nano-silicon alters antioxidant activities of soybean seedlings under salt toxicity. *Protoplasma*, 255(3), 953–962. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1202-0>
- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura FIRA (2019). Panorama agroalimentario tomate rojo 2019. Recuperado de <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2019/06/Panorama->

Agroalimentario-Tomate-rojo-2019.pdf

- González-García, Y., Cadenas-Pliego, G., Alpuche-Solís, Á. G., Cabrera, R. I., & Juárez-Maldonado, A. (2021). Carbon nanotubes decrease the negative impact of *Alternaria solani* in tomato crop. *Nanomaterials*, *11*(5), 1–15. <https://doi.org/10.3390/nano11051080>
- González-García, Y., López-Vargas, E. R., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., González-Morales, S., Robledo-Olivo, A., ... Juárez-Maldonado, A. (2019). Impact of carbon nanomaterials on the antioxidant system of tomato seedlings. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(23), 5858. <https://doi.org/10.3390/ijms20235858>
- Hatami, M., Kariman, K., & Ghorbanpour, M. (2016). Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. *Science of the Total Environment*, *571*, 275–291. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.184>
- Hung, C. Y., & Yen, G. C. (2002). Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens* Hemsl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(10), 2993–2997. <https://doi.org/10.1021/jf011454y>
- Inami, K., Kashiwa, T., Kawabe, M., Onokubo-Okabe, A., Ishikawa, N., Pérez, E. R., ... Arie, T. (2014). The tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* shares common ancestors with nonpathogenic *F. oxysporum* isolated from wild tomatoes in the Peruvian Andes. *Microbes and Environments*, *29*(2), 200–210. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME13184>
- Jalil, S. U., & Ansari, M. I. (2020). Role of nanomaterials in weed control and plant diseases management. In *Nanomaterials for Agriculture and Forestry Applications*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817852-2.00017-2>
- Jordan, J. T., Singh, K. P., & Cañas-Carrell, J. E. (2018). Carbon-based nanomaterials elicit changes in physiology, gene expression, and epigenetics in exposed plants: a review. *Current Opinion in Environmental Science and Health*, *6*, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.07.007>
- Joshi, A., Kaur, S., Singh, P., Dharamvir, K., Nayyar, H., & Verma, G. (2018). Tracking multi-walled carbon nanotubes inside oat (*Avena sativa* L.) plants and assessing their effect on growth, yield, and mammalian (human) cell

- viability. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, 8(6), 1399–1414. <https://doi.org/10.1007/s13204-018-0801-1>
- Khan, M. A., Khan, T., Mashwani, Z. ur R., Riaz, M. S., Ullah, N., Ali, H., & Nadhman, A. (2019). Plant cell nanomaterials interaction: Growth, physiology and secondary metabolism. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (1st ed., Vol. 84). <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2019.04.005>
- Li, H., Liu, H., Wang, Y., Teng, R. M., Liu, J., Lin, S., & Zhuang, J. (2020). Cytosolic ascorbate peroxidase 1 modulates ascorbic acid metabolism through cooperating with nitrogen regulatory protein P-II in tea plant under nitrogen deficiency stress. *Genomics*, 112(5), 3497–3503. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.06.025>
- Liné, C., Larue, C., & Flahaut, E. (2017). Carbon nanotubes: Impacts and behaviour in the terrestrial ecosystem - A review. *Carbon*, 123, 767–785. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2017.07.089>
- López-Vargas, E. R., Ortega-Ortíz, H., Cadenas-Pliego, G., Romenus, K. de A., de la Fuente, M. C., Benavides-Mendoza, A., & Juárez-Maldonado, A. (2018). Foliar application of copper nanoparticles increases the fruit quality and the content of bioactive compounds in tomatoes. *Applied Sciences (Switzerland)*, 8(7). <https://doi.org/10.3390/app8071020>
- López, L. M. (2017). Manual técnico del cultivo de tomate. In *Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (inta)*. Recuperado de <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10921.pdf>
- Lu, J., Shao, G., Cui, J., Wang, X., & Keabetswe, L. (2019). Yield, fruit quality and water use efficiency of tomato for processing under regulated deficit irrigation: A meta-analysis. *Agricultural Water Management*, 222(June), 301–312. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.06.008>
- Lu, J., Shao, G., Gao, Y., Zhang, K., Wei, Q., & Cheng, J. (2021). Effects of water deficit combined with soil texture, soil bulk density and tomato variety on tomato fruit quality: A meta-analysis. *Agricultural Water Management*, 243(1), 106427. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106427>
- Majeed, N., Panigrahi, K. C. S., Sukla, L. B., John, R., & Panigrahy, M. (2020).

- Application of carbon nanomaterials in plant biotechnology. *Materials Today: Proceedings*, 30, 340–345. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.01.618>
- Marchiol, L., Iafisco, M., Fellet, G., & Adamiano, A. (2020). Nanotechnology support the next agricultural revolution: Perspectives to enhancement of nutrient use efficiency. In *Advances in Agronomy* (1st ed., Vol. 161). <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.12.001>
- McGovern, R. J. (2015). Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, 73, 78–92. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.021>
- Moreno, N. M. (2017). Agrohomeopatía como alternativa a los agroquímicos. *Revista Medica de Homeopatía*, 10(1), 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.homeo.2017.04.004>
- Nehra, S., Gothwal, R. K., Varshney, A. K., Solanki, P. S., Chandra, S., Meena, P., ... Ghosh, P. (2021). Bio-management of *Fusarium* spp. associated with fruit crops. *Fungal Diversity of Sustainable Agriculture*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821394-0.00019-6>
- Patel, A., Tiwari, S., Parihar, P., Singh, R., & Prasad, S. M. (2019). Carbon Nanotubes as Plant Growth Regulators. In *Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811488-9.00002-0>
- Pérez-Labrada, F., Hernández-Hernández, H., López-Pérez, M. C., González-Morales, S., Benavides-Mendoza, A., & Juárez-Maldonado, A. (2020). Nanoparticles in plants: morphophysiological, biochemical, and molecular responses. In *Plant Life Under Changing Environment*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818204-8.00016-3>
- Pinedo-Guerrero, Z. H., Delia Hernández-Fuentes, A., Ortega-Ortiz, H., Benavides-Mendoza, A., Cadenas-Pliego, G., & Juárez-Maldonado, A. (2017). Cu nanoparticles in hydrogels of chitosan-PVA affects the characteristics of post-harvest and bioactive compounds of jalapeño pepper. *Molecules*, 22(6). <https://doi.org/10.3390/molecules22060926>
- Ray, S. S., Gusain, R., & Kumar, N. (2020). Carbon nanomaterials: synthesis, functionalization, and properties. In *Carbon Nanomaterial-Based Adsorbents*

for *Water Purification* (pp. 137–179). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821959-1.00007-6>

Ripoll, J., Urban, L., Brunel, B., & Bertin, N. (2016). Water deficit effects on tomato quality depend on fruit developmental stage and genotype. *Journal of Plant Physiology*, *190*, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.10.006>

SADER-SIAP. (2019). Panorama agroalimentario 2019. *Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural*, 214. Recuperado de <https://www.gob.mx/fira/documentos/panorama-agroalimentario>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural SADER. (2019). Reporte del mercado de tomate rojo. 17. Recuperado de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>

Šamec, D., Karalija, E., Šola, I., Vujčić Bok, V., & Salopek-Sondi, B. (2021). The Role of Polyphenols in Abiotic Stress Response: The Influence of Molecular Structure. *Plants*, *10*(1), 118. <https://doi.org/10.3390/plants10010118>

Seifi, T., & Kamali, A. R. (2021). Anti-pathogenic activity of graphene nanomaterials: A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *199*, 111509. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111509>

Singh, P., Singh, J., Ray, S., Rajput, R. S., Vaishnav, A., Singh, R. K., & Singh, H. B. (2020). Seed biopriming with antagonistic microbes and ascorbic acid induce resistance in tomato against *Fusarium* wilt. *Microbiological Research*, *237*(March), 126482. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126482>

Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B., ... Srivastava, R. K. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: biology to diversity– a review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *26*(7), 1315–1324. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002>

Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and soil*, *15*(2), 134-154.

Verma, S. K., Das, A. K., Gantait, S., Kumar, V., & Gurel, E. (2019). Applications

of carbon nanomaterials in the plant system: A perspective view on the pros and cons. *Science of the Total Environment*, 667, 485–499. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.409>

Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, E., Morales-Morales, M., M., B.-S., & Martínez-Escudero, S. (2015). Current situation of *Fusarium* spp in the control and evaluation of the antifungal activity on vegetables extracts. *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205.

Wang, X., Liu, X., Chen, J., Han, H., & Yuan, Z. (2014). Evaluation and mechanism of antifungal effects of carbon nanomaterials in controlling plant fungal pathogen. *Carbon*, 68, 798–806. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2013.11.072>

Yu, Z., & Dahlgren, R. A. (2000). Polyphenols in Conifer Foliage. *Journal of Chemical Ecology*, 26(9), 2119–2140.