

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A *Fusarium oxysporum* EN TOMATE CON EL
USO DE NANOCOMPUESTOS DE ÓXIDO DE ZINC, ÓXIDO DE MAGNESIO Y
GRAFENO

Tesis

Que presenta ALEJANDRA SÁNCHEZ REYNA

como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A *Fusarium oxysporum* EN TOMATE CON EL
USO DE NANOCOMPUESTOS DE ÓXIDO DE ZINC, ÓXIDO DE MAGNESIO Y
GRAFENO

Tesis

Que presenta ALEJANDRA SÁNCHEZ REYNA
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Dr. Antonio Juárez Maldonado
Director UAAAN

Dra. Yolanda González García
Director Externo

Dr. Antonio Flores Naveda
Subdirector de Postgrado
UAAAN

INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A *Fusarium oxysporum* EN TOMATE CON EL
USO DE NANOCOMPUESTOS DE ÓXIDO DE ZINC, ÓXIDO DE MAGNESIO Y
GRAFENO

Tesis

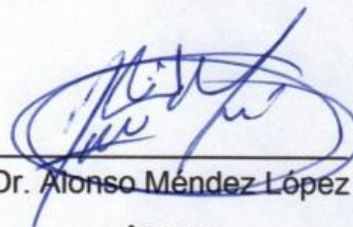
Elaborada por ALEJANDRA SÁNCHEZ REYNA como requisito parcial
para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Horticultura
con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor principal



Dra. Yolanda González García
Asesor



Dr. Alonso Méndez López
Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Asesor

Dr. Ángel Gabriel Alpuche Solís
Asesor



Dr. Antonio Flores Naveda
Subdirector de Postgrado
UAAAN

AGRADECIMIENTOS

Al doctor Antonio Juárez Maldonado, por su orientación académica durante el desarrollo de esta investigación.

A la doctora Yolanda González García, por ser guía y mentora, con su ejemplo y conocimiento.

Al doctor Alonso Méndez López, por su colaboración durante la investigación.

Al doctor Alberto Sandoval Rangel, por brindarme generosamente su apoyo desde el primer momento.

Al doctor Ángel Gabriel Alpuche Solís, por sus valiosas aportaciones y disposición para enriquecer este trabajo.

DEDICATORIA

A mi familia, con amor y gratitud.

ÍNDICE

APROBACIÓN DE TESIS CON DIRECTOR EXTERNO	ii
APROBACIÓN DE TESIS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General.....	3
Objetivos Específicos.....	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
El cultivo de tomate.....	4
Patógenos del cultivo de tomate	4
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	5
Métodos de control de patógenos.....	6
Bioestimulantes.....	7
Nanotecnología.....	9
Nanopartículas de óxido de zinc, óxido de magnesio y grafeno	9
Uso de nanomateriales para el control de patógenos en plantas	11
MATERIALES Y MÉTODOS	13
Ubicación del experimento.....	13
Material vegetal.....	13

Nanopartículas.....	13
Desarrollo del cultivo.....	14
Inoculación de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> , análisis de incidencia y severidad de la enfermedad.....	15
Variables agronómicas	15
Muestreo para análisis bioquímico.....	16
Variables bioquímicas.....	16
Análisis estadístico	16
RESULTADOS	17
DISCUSIÓN	26
Respuestas de las plantas a nivel morfológico	26
Respuestas de las plantas a nivel bioquímico	28
CONCLUSIÓN	32
REFERENCIAS	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia (A) y severidad (B) de la enfermedad causada por <i>F. oxysporum</i> en plantas de tomate	17
Figura 2. Altura de planta (A), biomasa fresca (B), biomasa seca (C), número de racimos (D), número de hojas (E) y diámetro de tallo (F) de plantas de tomate	18
Figura 3. Contenido de clorofila a (A), clorofila b (B), β -carotenos (C), peróxido de hidrógeno (D), radical superóxido (E) y malondialdehído (F).....	20
Figura 4. Incidencia (A) y severidad (B) de la enfermedad causada por <i>F. oxysporum</i> en plantas de tomate	21
Figura 5. Altura de planta (A), diámetro de tallo (B), número de hojas (C), biomasa fresca (D), biomasa seca (E) y rendimiento de frutos (F) de plantas de tomate.....	22
Figura 6. Contenido de clorofila a (A), clorofila b (B), β -carotenos (C), peróxido de hidrogeno (D), radical superóxido (E) y malondialdehído (F). T0: control absoluto	24
Figura 7. Contenido de fenoles (A), flavonoides (B) y ácido ascórbico (C)	25

RESUMEN

INDUCCIÓN DE TOLERANCIA A *Fusarium oxysporum* EN TOMATE CON EL
USO DE NANOCOMPUESTOS DE ÓXIDO DE ZINC, ÓXIDO DE MAGNESIO Y
GRAFENO

Por

ALEJANDRA SÁNCHEZ REYNA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. ANTONIO JUÁREZ MALDONADO
ASESOR

Saltillo, Coahuila

Agosto 2025

El tomate es un cultivo económicamente importante a nivel mundial y es susceptible a estrés biótico y abiótico, situaciones que impactan negativamente el ciclo del cultivo. El estrés biótico es ocasionado por fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (FOL), responsable de la marchitez vascular, un padecimiento que genera pérdidas económicas de hasta el 100 % en cultivos hortícolas. Los nanocompuestos representan un área de oportunidad para el control de patógenos ya que mediante estimulaciones modifican el programa de desarrollo de las plantas, logrando una adaptación y tolerancia al estrés. El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad antimicrobiana de las nanopartículas de óxido de zinc, óxido de magnesio y grafeno utilizadas en plantas de tomate inoculadas con FOL. En los resultados se observan los diversos efectos positivos, destacando la eficiencia del nanocompuesto ZnO+GP a 200 mg L⁻¹, el cual disminuyó la severidad de la infección alrededor del 15 %, además de incrementar variables agronómicas y reducir especies reactivas de oxígeno. Con base en los resultados se puede concluir que la aplicación de estos nanomateriales aumenta el desarrollo vegetativo y la defensa al estrés biótico.

Palabras clave: bioestimulación; estrés biótico fitopatógenos; nanotecnología; indicadores de daño; bioestimulación; estrés biótico.

ABSTRACT

INDUCING TOLERANCE TO *Fusarium oxysporum* IN TOMATO USING ZINC
OXIDE, MAGNESIUM OXIDE AND GRAPHENE NANOCOMPOSITES.

BY

ALEJANDRA SÁNCHEZ REYNA

MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE
ANTONIO NARRO AUTONOMOUS AGRARIAN UNIVERSITY

DR. ANTONIO JUÁREZ MALDONADO
ADVISOR

Tomato is an economically important crop worldwide and is susceptible to both biotic and abiotic stress, factors that negatively impact its growth cycle. Biotic stress is caused by phytopathogens such as *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL), which is responsible for vascular wilt, a disease that can cause up to 100 % economic loss in horticultural crops. Nanocomposites represent a promising approach for pathogen control, as they can stimulate changes in plant developmental programs, promoting adaptation and tolerance to stress. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial capacity of zinc oxide, magnesium oxide, and graphene nanoparticles applied to tomato plants inoculated with FOL. The results showed various positive effects, with the ZnO+GP nanocomposite at 200 mg L⁻¹ standing out for reducing infection severity by approximately 15 %, while also improving agronomic traits and decreasing reactive oxygen species. Based on the findings, it can be concluded that the application of these nanomaterials enhances vegetative growth and tolerance to biotic stress.

Keywords: biostimulation; biotic stress; damage indicators; nanotechnology; phytopathogens.

INTRODUCCIÓN

Solanum lycopersicum L. es un cultivo de gran importancia económica al ser un alimento funcional, con amplio uso en la cocina (Kiralán y Ketenoglu, 2022). Susceptible a múltiples patógenos como hongos, virus, bacterias y oomicetos, los cuales generan un menoscabo en la productividad de la hortaliza (Campos et al., 2021). Estos patógenos afectan no solo aspectos morfológicos, sino también bioquímicos y moleculares (Kumar y Verma, 2018).

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* (FOL), es responsable del padecimiento de la marchitez vascular (Carmona et al., 2020). Este patógeno invade la raíz, deteriorando el área basal del tallo, reduciendo el desarrollo vegetal y ocasionando rendimientos bajos o incluso nulos (Hanan Aref, 2020). Habita el xilema limitando el transporte de agua, desencadenando pérdida de turgencia, clorosis, marchitez y finalmente la muerte (Singh et al., 2017). FOL es responsables de elevadas pérdidas anuales en cultivos de tomate de hasta el 100 % (McGovern, 2015).

El control de patógenos requiere del empleo de diversas herramientas sostenibles, interdisciplinarias que incluyan la protección vegetal, seguridad alimentaria y ambiental (Jeger et al., 2021). Sin embargo, el método convencional para el control de FOL es de origen químico y presenta diversas desventajas como la rápida liberación y degradación del ingrediente activo, conduciendo a la sobre aplicación que no solo genera resistencia en el patógeno sino que daña al ambiente (Nandini et al., 2023). Por ello la nanotecnología resulta prometedora al funcionar como bioestimulante, induciendo resistencia a condiciones de estrés biótico o abiótico (Juárez-Maldonado et al., 2019). Las nanopartículas (NPs) pueden aumentar la producción agrícola y reducir el daño por fitopatógenos (Rana et al., 2021). Retardan la liberación del ingrediente activo, son eficientes a dosis bajas y protegen a los cultivos de afecciones fúngicas o bacterianas (Malandrakis et al., 2019).

Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) son eficaces contra un gran número de patógenos (Malandrakis et al., 2019). Inducen la generación de especies

reactivas de oxígeno (ROS) que transmiten señales que activan respuestas de defensa fisicoquímicas (Calvo et al., 2014). Además, el Zn es un nutriente indispensable para el metabolismo, desarrollo vegetal, expresión genética, y composición de biomoléculas, participa en la fotosíntesis y es cofactor de hormonas (giberelinas, auxinas, citoquininas y ácido abscísico) y enzimas (hidrolasas y ligasas) (Hacisalihoglu, 2020). Por otro lado, las NPs de óxido de magnesio (MgO), controlan afecciones en cultivos al producir ROS que son tóxicas para los microorganismos y activan vías de señalización como la del ácido salicílico (Fujikawa et al., 2021). Esta hormona da lugar a reacciones de defensa como la activación de genes relacionados con la patogénesis (PR), respuesta hipersensible (RH) y respuesta sistémica adquirida (SAR) (Wilson et al., 2023). Finalmente el grafeno es un alótropo de carbono que presenta estabilidad química, mecánica, alta superficie y baja toxicidad, facilita la absorción de nutrientes al actuar como portador de elementos esenciales (Bhattacharya et al., 2023). Tiene potencial antimicrobiano porque puede dañar la estructura celular de los patógenos provocando su muerte (Azizi-Lalabadi et al., 2020).

Los nanocompuestos de óxido de zinc (ZnO) y óxido de magnesio (MgO) combinados con grafeno (GP) son una oportunidad económica, que no solo proveen del nutriente sino que presentan capacidades antimicrobianas (Saqib et al., 2022). La funcionalidad de la mezcla se basa en la capacidad del GP para actuar como transportador de moléculas como ZnO y MgO, potenciando las propiedades de ambos materiales (Salih et al., 2016). Esto gracias a la compatibilidad química que presentan, logrando la interacción con el GP mediante la formación de enlaces entre sus grupos funcionales (Premkumar y Geckeler, 2012). Su tamaño nanométrico resulta efectivo en los cultivos ya que penetran la célula fácilmente, además de que se absorben y traslocan eficientemente (Sharma et al., 2023). Presentan mayor superficie específica, aumentando los puntos de contacto con microorganismos, atravesando la membrana mediante endocitosis, generando estrés oxidativo y ocasionando la muerte celular (Draviana et al., 2023).

Las nanopartículas (NPs) utilizadas en la presente investigación estimulan el sistema inmune vegetal y modifican positivamente el desempeño metabólico y adaptativo de las plantas (González-Morales et al., 2021). Mitigan estreses, promueve la supervivencia de las plantas y reducen el uso de agroquímicos (Carletti et al., 2021). Poseen además, gran facilidad de transporte, manipulación, eficiencia y larga vida, convirtiéndose en una técnica práctica con potencial para mejora de los sistemas de producción alimentaria (Yadav, 2022).

Objetivo General

Determinar el impacto de los nanocompuestos de óxido de zinc, óxido de magnesio y grafeno en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL).

Objetivos Específicos

Evaluar el efecto de los nanocompuestos sobre la incidencia y severidad de FOL en plantas de tomate.

Evaluar el crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate inoculadas con FOL.

Determinar los cambios en el sistema de defensa de las plantas de tomate inoculadas con FOL.

Seleccionar el nanocompuesto y la concentración más eficiente en plantas de tomate inoculadas con FOL.

Hipótesis

El uso de nanocompuestos estimulará mecanismos que aumenten la tolerancia de *Solanum lycopersicum* a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

REVISIÓN DE LITERATURA

El cultivo de tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es un cultivo con alta importancia económica, al ser una de las hortalizas más consumida en todo el mundo. Su uso es diverso y esencial en la cocina, además, su calidad nutracéutica provee vitaminas, minerales y antioxidantes. Es un cultivo de importancia mundial a consecuencia de su alto consumo, versatilidad culinaria y valor nutricional (SADER, 2023).

Proviene de América del Sur y fue domesticado en Mesoamérica por lo que México posee una amplia cantidad de variedades con distintas formas, calibres, colores y sabores (INIFAP, 2022). La mayor producción a nivel nacional de tomate es representada por los estados de Sinaloa, Baja California Sur, Sonora y Michoacán (SIAP, 2022).

Es una de las plantas cultivadas más estudiada, utilizada como modelo de investigación, por lo que es un cultivo de importancia no solo económica sino científica (Campos et al., 2021).

Patógenos del cultivo de tomate

En la producción agrícola los patógenos son responsables de significativas pérdidas anuales lo que aumenta la inseguridad alimentaria (Hu et al., 2021). Las plantas están sujetas a tensiones como el estrés biótico, el cual involucra la interacción de dos organismos vivos que afectan procesos metabólicos y de crecimiento, ocasionando pérdidas vegetales y económicas significativas (Campos et al., 2021). Las plagas y enfermedades ocasionan pérdidas en el rendimiento de múltiples cultivos impactando no solo la economía del productor sino la disponibilidad de alimentos (Kashyap y Kumar, 2021).

El tomate es un cultivo susceptible a diversos bioagresores que infectan y disminuyen su productividad y calidad, estas afecciones se presentan principalmente con tizones, manchas, pudrición de hojas y frutos (Campos et al.,

2022). Afectando negativamente aspectos morfológicos, bioquímicos y moleculares (Kumar y Verma, 2018).

El tomate es un cultivo afectado principalmente por hongos (*Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum*), bacterias (*Clavibacter michiganensis*, *Xanthomonas* spp. o *Pseudomonas syringae*), fitoplasmas (*Candidatus Phytoplasma solani*), virus (virus de la marchitez manchada del tomate y virus del enrollamiento de las hojas amarillas del tomate) y oomicetos (*Phytophthora infestans*) (Panno et al., 2021). Estos organismos afectan el funcionamiento óptimo del hospedero, secretando proteínas que manipulan los procesos fisiológicos y de defensa de las plantas favoreciendo la infección (Chen et al., 2023).

Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici

Fusarium es un género de hongos polípagos y cosmopolitas que habitan el suelo y puede infectar a una amplia variedad de plantas (Shabeer et al., 2021). Es económicamente importante porque provoca enfermedades severas como la pudrición de raíz, ocasionando pérdidas significativas en la producción y calidad de diversos cultivos agrícolas (Carmona et al., 2020).

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* (FOL), deteriora las raíces y el área basal del tallo, limitando el crecimiento, desarrollo y rendimiento de la planta, generando producciones mínimas o incluso nulas (Hanan Aref, 2020). La planta infectada pierde turgencia, presenta amarillamiento que se convierte en lesiones marrones hasta que se marchita totalmente y muere (Singh et al., 2017). Su ciclo de vida es anamorfo (asexual) y se producen tres tipos de esporas; microconidias, macroconidias y clamidosporas, estas estructuras son responsables de la reproducción y dispersión del hongo (Lu et al., 2023).

FOL ingresa a la planta a través de las raíces y se propaga por el tejido vascular, invade el xilema y obstruye los vasos conductores, restringiendo de agua a la planta, desencadenando el marchitamiento en el organismo, comenzando por las hojas inferiores progresando a las hojas superiores hasta colonizar completamente al hospedero (Srinivas et al., 2019). FOL libera enzimas como las celulasas y metabolitos tóxicos como el ácido fusárico y los tricotecenos

(Fernandes y Ghag, 2022). Estos compuestos pueden manipular los sistemas de defensa retardando el proceso de reconocimiento y activación de respuestas de defensa de la planta, logrando así la colonización y proliferación fúngica (Mugao, 2023). Sin embargo, las plantas desarrollaron un sistema de defensa que identifica patógenos y desencadena respuestas contra el agente invasor (Pieterse et al., 2009). Las respuestas inmunes son activadas por patrones moleculares asociados a patógenos y por efectores, es decir la defensa es generada inicialmente por la identificación de compuestos microbianos, dando lugar a la transducción de señales, modificaciones en la expresión de genes (genes PR relacionados a la patogénesis) y al estallido oxidativo (contribuyendo en la activación de vías hormonales de defensa como; ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno) (Liu et al., 2020).

Métodos de control de patógenos

Las enfermedades son factores que reducen la producción agrícola por lo que el control de ellas requiere inicialmente de la identificación acertada y oportuna (Khiyami et al., 2014). El control de afecciones requiere de un manejo integrado que combine múltiples métodos sostenibles y efectivos que reduzcan pérdidas económicas y minimicen el impacto en la salud humana y al medio ambiente (Jeger et al., 2021).

Para el manejo de fitopatógenos se emplean diversas estrategias, el método de control más utilizado es de origen químico y ofrece protección inmediata, sin embargo, el uso masivo de estas sustancias genera resistencia en el organismo objetivo, bioacumulación en el cultivo, ecotoxicidad, daños al bienestar humano y pérdida de biodiversidad (Pandit et al., 2022). Los compuestos heterocíclicos nitrogenados, como los azoles, ditiocarbamatos, dicarboximidas, carbendazim, carboxin, propiconazol, benomyl y difenoconazol, son algunos de los químicos más empleados en el control de enfermedades. Sin embargo, diversas investigaciones han señalado que el uso de estos fungicidas no han logrado un control significativo de la enfermedad, por lo que no es sostenible, al ser poco efectivo y además costoso (Bubici et al., 2019). Por ello se vuelve necesario

implementar estrategias de manejo alternativas que reduzcan el uso de plaguicidas, realizando prácticas que puedan mantenerse a largo plazo sin causar efectos altamente negativos en el medio ambiente (Argento et al., 2019). El control biológico se realiza mediante la utilización de microorganismos como agentes de control que poseen potencial bioplaguicida. Los organismos antagónicos destacables son bacterias como *Pseudomonas* spp, *Bacillus* spp y hongos como *Trichoderma* spp (Lahlali et al., 2022). Los microorganismos antagónicos suprimen al patógeno mediante la secreción de compuestos tóxicos (antibiosis), por competencia de recursos necesarios (espacio, oxígeno o nutrientes) o por hiperparasitismo (utilizando al patógeno a manera de alimento como lo hace *Trichoderma*), donde intervienen metabolitos secundarios antimicrobianos como las proteasas, quitinasas, celulasas, etc. (Sushma et al., 2019).

Como control físico se utiliza la solarización, herramienta aplicada para eliminar patógenos del suelo a través del calentamiento de los suelos (Ma et al., 2023). La rotación de cultivos es usada como método de control cultural para controlar patógenos transmitidos por el suelo, es una estrategia prometedora para el control de enfermedades, que tiene como objetivo enriquecer la microbiota en el suelo y reducir la infección, rotando diferentes especies de plantas que interrumpan el ciclo de vida del patógeno al sembrar un cultivo no hospedero (De Corato et al., 2020).

Bioestimulantes

Los bioestimulantes son sustancias o microorganismos funcionales en las plantas que mejoran la asimilación de nutrientes, incrementan el desarrollo vegetal y la adaptación a diferentes tipos de estrés (du Jardin, 2015). Muestran impacto mediante modificaciones fisiológicas, morfológicas, bioquímicas y epigenéticas, logrando de este modo generar respuestas y alteraciones que mejoran el rendimiento metabólico y adaptativo de las plantas a situaciones ambientales adversas (González-Morales et al., 2021).

La bioestimulación es un fenómeno biológico que aplicado en rangos específicos favorece el desarrollo de los cultivos (Juárez-Maldonado et al., 2019). Esta herramienta se integra cada vez más en la agricultura ya que estimula el crecimiento, mitiga estreses, incrementa la productividad (Yakhin et al., 2017), promueve la supervivencia de las plantas y reduce el uso de fertilizantes (Carletti et al., 2021).

Una acción estimulante es procesada por la planta mediante una secuencia cíclica que permite la adaptación del organismo (percepción, transducción, señalización y respuesta), generando una serie de ajustes bioquímicos y metabólicos que dan lugar a modificaciones fisiológicas que alteran el fenotipo inicial permitiendo la aclimatación (Benavides-Mendoza y Lara, 2022). Esta resistencia de las plantas a estreses bióticos es regulada a través del reconocimiento de este, desencadenando una cascada de señalización que involucra la generación de sustancias reactivas de oxígeno (ROS), compuestos antimicrobianos y la activación de genes de resistencia a patógenos (Sharma y Gupta, 2020).

Es decir las plantas presentan una inmunidad innata mediante defensas químicas y físicas que detectan y detienen a patógenos, la defensa del organismo puede ser pasiva, la cual incluye; aspectos físicos (como la topografía de la hoja, cera cuticular y apertura estomática) y químicos (generación de compuestos) o activa; como lo es la resistencia sistémica inducida (ISR) y la resistencia sistémica adquirida (SAR) (Patel et al., 2020). SAR es una respuesta de defensa desencadenada por la infección inicial de un patógeno, que protege a la planta de infecciones posteriores del mismo patógeno o similares, generando señales móviles en el sitio infectado que se traslocan a los tejidos distales preparando a toda la planta (Shine et al., 2018). Mientras que ISR prepara a la planta para futuros ataques a partir de la implementación de microorganismos benéficos (Dongdong et al., 2022).

Nanotecnología

La nanotecnología es un área multidisciplinar que implica campos como la física, química, ingeniería y biología (Hayes, 2020). Es una tecnología popular aplicada a nivel de nanoescala (1-100 nm), utilizada en diversas industrias como la alimentaria, biomédica, electrónica, entre otras (Alsaba et al., 2020).

Es una disciplina multifacética que ha dado lugar a nuevos bienes, métodos y servicios que pueden abordar temas críticos en el mundo actual (Harinisri y Jayanthi, 2023). Las nanopartículas poseen propiedades químicas, térmicas, ópticas, eléctricas, mecánicas y biológicas que al seleccionar las características adecuadas dan resultados positivos en la agricultura (Rawtani et al., 2020).

Esta tecnología ha demostrado potencial en la agricultura reduciendo insumos y favoreciendo al medio ambiente. La nanotecnología tiene la capacidad de ayudar a las plantas a contrarrestar condiciones de estrés (Usman et al., 2020). Impulsa la producción mediante el uso de nanofertilizantes o nanoplaguicidas que controlan plagas y enfermedades (Acharya y Pal, 2020).

Nanopartículas de óxido de zinc, óxido de magnesio y grafeno

El tamaño nanométrico de las partículas permite que su superficie incrementalmente volviéndose extremadamente reactivas. Al estar presentes en suelo y agua provocan la absorción en la planta, ingresando por la raíz o por los estomas cuando es aplicado de forma foliar (Hayes, 2020). Las NPs tienen una mayor capacidad de biodisponibilidad y absorción de otras sustancias (Bell et al., 2014). La respuesta en la planta varía dependiendo la forma, tamaño, modo de aplicación y cualidades físico-químicas, las cuales intervienen en procesos metabólicos produciendo así impacto en los cultivos (Rastogi et al., 2017).

Las nanopartículas modifican procesos fisiológicos y de crecimiento que aumentan el rendimiento e incrementan la aclimatación de las plantas a condiciones negativas (Benavides-Mendoza y Lara, 2022). Modulan el metabolismo celular mediante la interacción con proteínas citoplasmáticas, membranas y orgánulos que impactan la expresión génica, desencadenando respuestas celulares (como la activación de rutas de señalización hormonal o del

metabolismo antioxidante) (Juárez-Maldonado et al., 2019). Regulan la adaptación y/o recuperación a la situación de estrés bajo la que se encuentra la planta (Zulfiqar y Ashraf, 2021).

Las NPs de óxido de zinc (ZnO) son eficaces contra una amplia gama de patógenos por su alta relación superficie volumen (Sun et al., 2018). Retardan la liberación del ingrediente activo, siendo más eficaz y a dosis bajas, demostrando capacidad antimicrobiana, que protege a cultivos de afecciones fúngicas o bacterianas a bajo costo (Malandrakis et al., 2019). El ZnO aumenta el contenido de compuestos antioxidantes reduciendo el daño celular por oxidación (Ghani et al., 2022). Asimismo, posee propiedades fisicoquímicas que difícilmente se degradan bajo condiciones ambientales, convirtiéndolo en un material estable (Yadav, 2022).

El MgO es una opción de nanopartículas no tóxica, biodegradable y biocompatible que incrementa el vigor de las plantas, además de protegerlas de fitopatógenos (Sreevidya et al., 2024). Su potencial antimicrobiano controla afecciones en cultivos, destruye la estructura de la pared y membrana ocasionando la pérdida del contenido celular, desencadenando la muerte de la célula (Kim et al., 2020). El MgO da lugar a respuestas de defensa activas en la planta mediante la generación de ácido salicílico (Fujikawa et al., 2021). Esta fitohormona desencadena métodos de defensa como la apoptosis, estimulación de la expresión de genes y compuestos de defensa que aumentan la resistencia de la planta (Wilson et al., 2023).

En el mismo sentido el grafeno presenta estabilidad química, mecánica, alta superficie y baja toxicidad, además de funcionar como vehículo de administración de nutrientes, convirtiéndolo en un material prometedor y biocompatible para la agricultura (Bhattacharya et al., 2023). La utilización de este material ha resuelto problemáticas agrícolas que eficientan y protegen la producción mediante fertilizantes, plaguicidas y nanobiosensores (Li et al., 2018). Exhibe capacidades

antimicrobianas, basadas en el daño estructural, a la pared/membrana celular microbiana, además de generar estrés oxidativo causando muerte celular (Azizi-Lalabadi et al., 2020).

Las nanopartículas de grafeno pueden construir compuestos confiables, presentan alta superficie, electrocatalisis, afinidad con las membranas y capacidad para transportar moléculas orgánicas e inorgánicas que potencie las propiedades de ambos materiales y desencadenen efectos positivos en las variables de respuesta del cultivo (Salih et al., 2016). Esta compatibilidad química entre el ZnO y MgO con el GP se debe a que ambos materiales pueden formar enlaces covalentes o no covalentes entre sus grupos funcionales. Es decir el nanocompuesto es el resultado de la interacción fisicoquímica entre ambos materiales (Premkumar y Geckeler, 2012), que mejora la funcionalidad del material resultante (Farhan et al., 2022).

Uso de nanomateriales para el control de patógenos en plantas

El control de patógenos en sistemas agrícolas representa un desafío constante en la producción de alimentos, por lo que el uso de nanomateriales se ha convertido en una nueva estrategia para el control de fitopatógenos (Kalia et al., 2020). La aplicación de algunos materiales nanométricos ha demostrado su efectividad antimicrobiana, al controlar diversos patógenos (Alghuthaymi et al., 2021).

Inhiben el crecimiento de diversos patógenos de importancia agrícola como *Botrytis cinerea*, *Fusarium spp*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata*, *Macrophomina phaseolina*, *Penicillium expansum* y *Aspergillus niger*, siendo estos solo algunos de los patógenos que afectan a múltiples cultivos de alto valor económico (Kutawa et al., 2021).

En la actualidad estos materiales nanométricos son considerados un método de control sensible e inteligente para la protección de cultivos vegetales (Choudhary et al., 2020). Las investigaciones actuales se concentran no solo en la eficiencia antimicrobiana de los nanomateriales sino también en los principios de una

agricultura ecológica y responsable (Rajwade et al., 2020). El control de afecciones con nanomateriales se logra mediante la aplicación de nanopartículas de forma independiente o como transportadora de ingredientes activos (Ray et al., 2023). Esta tecnología nanométrica representa un área innovadora, caracterizada por su biocompatibilidad y alto potencial en el sector alimentario, aumentando su uso debido a la capacidad para controlar estrés biótico o abiótico, incrementando la resiliencia de los cultivos (Rani Sarkar et al., 2022).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El estudio se llevó a cabo en un invernadero de patógenos de media tecnología, tipo túnel con cubierta de polietileno, ventilación natural y orientación norte-sur, que pertenece a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). En donde se evaluaron nanocompuestos de óxido de zinc, óxido de magnesio y grafeno en plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* para inducir tolerancia al patógeno.

Material vegetal

Se utilizaron semillas de tomate tipo saladette correspondientes a la variedad El Cid F1 (Harris Moran, Davis, CA, EE. UU.) de crecimiento indeterminado.

Nanopartículas

Las nanopartículas utilizadas fueron nanoplaquetas de grafeno (GP) con un espesor de 2-8 nm (3-6 capas), una pureza del 95 % y un área superficial específica de 500 – 1200 m²/g (Número CAS: 7782-42-5, US Research Nanomaterials, Inc. Houston, Tx, EE. UU.). Nanopartículas de óxido de zinc (NPs de ZnO) con un tamaño de 10-30 nm, una pureza del 99.8 % y un área superficial específica de 30 – 50 m²/g (Número CAS: 1314-13-2, SkySpring Nanomaterials, Inc. Houston, Tx, EE. UU.). Nanopartículas de óxido de magnesio (NPs de MgO) con un tamaño de 20 nm, una pureza del 99 % y un área superficial específica > 60 m²/g (Número CAS: 1309-48-4, US Research Nanomaterials, Inc. Houston, Tx, EE. UU.).

Desarrollo del cultivo

El cultivo de tomate se estableció en invernadero, realizando el trasplante en contenedores de polietileno negro de 20 L en una mezcla de sustrato peat moss-perlita en proporción 1:1. Para la nutrición vegetal se utilizó solución Steiner (Steiner, 1961).

Esta investigación se desarrolló en dos fases utilizando el mismo cultivo. En la primer etapa las plantas de tomate se desarrollaron durante 70 días después del trasplante manejadas a un solo tallo, aplicando siete tratamientos directamente al suelo a un volumen de 10 mL por planta y una concentración de 100 mg L⁻¹ (en los casos en que se evaluaron mezclas de nanopartículas, cada una fue del 50 %): 1) ZnO+GP; NPs de óxido de zinc más grafeno, inoculado con FOL, 2) MgO+GP; NPs de óxido de magnesio más grafeno, inoculado con FOL, 3) GP; NPs de grafeno, inoculado con FOL, 4) MgO; NPs de óxido de magnesio, inoculado con FOL, 5) ZnO: NPs de óxido de zinc, inoculado con FOL, 6) T+: control positivo inoculado con FOL y 7) T0: control absoluto (sin aplicación ni inoculación con FOL). El tratamiento se inició en el momento del trasplante, con intervalos de dos semanas, para un total de cinco aplicaciones.

En la segunda etapa las plantas de tomate se desarrollaron durante 110 días, en esta etapa se evaluó el tratamiento más efectivo vs FOL de la primera fase que fue ZnO+GP y se aplicó en cuatro concentraciones diferentes. Los tratamientos evaluados fueron: 1) ZnO+GP-100 mg L⁻¹, 2) ZnO+GP-200 mg L⁻¹, 3) ZnO+GP-300 mg L⁻¹, 4) ZnO+GP-400 mg L⁻¹; NPs de óxido de zinc más grafeno inoculadas con FOL, 5) T+; control positivo inoculado con FOL, 6) CQ; control químico (captán 5 g L⁻¹) inoculado con FOL, y 7) T0; control absoluto (sin aplicación ni inoculación con FOL). Los tratamientos con nanopartículas se aplicaron directamente al suelo a un volumen de 10 mL por planta; las nanopartículas de ZnO y GP se agregaron en la misma proporción, cada una representando el 50 %. La aplicación del tratamiento comenzó en el trasplante y se repitió a intervalos de dos semanas para un total de siete aplicaciones.

Inoculación de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, análisis de incidencia y severidad de la enfermedad

Las esporas de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* se cultivaron durante 15 días en cajas Petri con PDA provisto de ampicilina (100 mg L^{-1}) a una temperatura de 29°C . La inoculación con FOL se llevó a cabo durante el trasplante, sumergiendo las raíces de las plántulas en la suspensión de conidios a una concentración de $1 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$.

La incidencia de la enfermedad se determinó visualmente cuando se observaron síntomas de FOL. A las plantas sin síntomas se les asignó un valor de cero y a las que sí los presentaban un valor de 1. Los resultados se expresan como porcentajes de incidencia.

La severidad de la enfermedad se determinó utilizando una escala visual en cada una de las 20 plantas por tratamiento y se reportó el promedio. A la escala visual se le adjudicó un valor, donde: 0 = no presenta síntomas; 1 = marchitez de hojas basales; 2 = clorosis de hojas basales y marchitez de hojas jóvenes; 3 = marchitez de la mayoría de las hojas, desecación difusa y amarillamiento y 4 = planta muerta. La severidad de la enfermedad se calculó como porcentaje.

Variables agronómicas

Se realizaron mediciones para evaluar el crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate. Considerando la altura de la planta (flexómetro), el diámetro de tallo (vernier digital) el número de hojas y de racimos.

En la cosecha, se pesaron los frutos y se determinó la biomasa fresca, considerando el peso de tallo y hojas (g), utilizando una báscula digital (modelo Adventurer Pro de Ohaus). El peso de biomasa seca aérea (g) se adquirió al secar las muestras en una estufa (modelo DHG9240A) durante 72 h expuestas a una temperatura de 90°C .

Muestreo para análisis bioquímico

Las muestras de hojas utilizadas para realizar los diferentes análisis bioquímicos fueron recolectadas a los 45 días después del trasplante. Para el muestreo se recolectaron las hojas jóvenes completamente expandidas (tercera o cuarta hoja) y se colocaron en hielo para su posterior almacenamiento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las muestras fueron liofilizadas y maceradas hasta obtener un polvo fino; a partir de esta muestra se determinaron los biomarcadores de estrés, metabolitos secundarios y pigmentos fotosintéticos.

Variables bioquímicas

Las pruebas bioquímicas realizadas fueron: peróxido de hidrógeno por el método de Velikova et al. (2000), radical superóxido determinado mediante la metodología de Whang & Luo (1990), el contenido de malondialdehído (MDA) de acuerdo al método descrito por Velikova et al. (2000), fenoles totales utilizando el método del reactivo Folin-Ciocalteu descrito por Yu y Dahlgren (2000), con algunos ajustes, flavonoides mediante la metodología descrita por Arvouet-Grand et al. (1994), el contenido de ácido ascórbico o vitamina C conforme el método de Hung y Yen, (2002) y el contenido de clorofilas determinadas de acuerdo con la metodología de Nagata y Yamashita (1992), con algunas modificaciones.

Análisis estadístico

El bioensayo se estableció bajo un diseño en bloques completos al azar con cinco repeticiones. Cada unidad experimental se conformaba por cuatro plantas de tomate, cada una en una maceta. Para determinar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos se realizó un análisis de varianza, y posteriormente se realizó una prueba de medias de Fisher LSD ($p \leq 0.05$). Adicionalmente, se realizó un análisis multivariado de varianza (MANOVA) y una prueba de Hotelling ($p \leq 0.05$) sobre las variables de incidencia y severidad de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum*. Para todos estos análisis se utilizó el software InfoStat versión 2020.

RESULTADOS

Incidencia y severidad de la enfermedad en la primera etapa

En la etapa uno se observaron diferencias significativas, dos semanas después de la inoculación los tratamientos MgO+GP y GP presentaban un 16 % y 50 % menos de incidencia respecto T+. Mientras que el ZnO+GP no presentaba incidencia (Fig. 1 A). La incidencia del 100 % se manifestó a las cuatro semanas después de la inoculación en todos los tratamientos con NPs. Por otro lado, la severidad de la enfermedad disminuyó significativamente a partir de la inoculación con la aplicación de nanocompuestos. El tratamiento con la severidad más baja fue el ZnO+GP; presentando una reducción del 22 % respecto al T+ en la semana seis. En la semana siete el GP, MgO, ZnO+GP y MgO+GP disminuyeron; 14 %, 12 %, 9 % y 7 % respecto al T+ (Fig. 1 B).

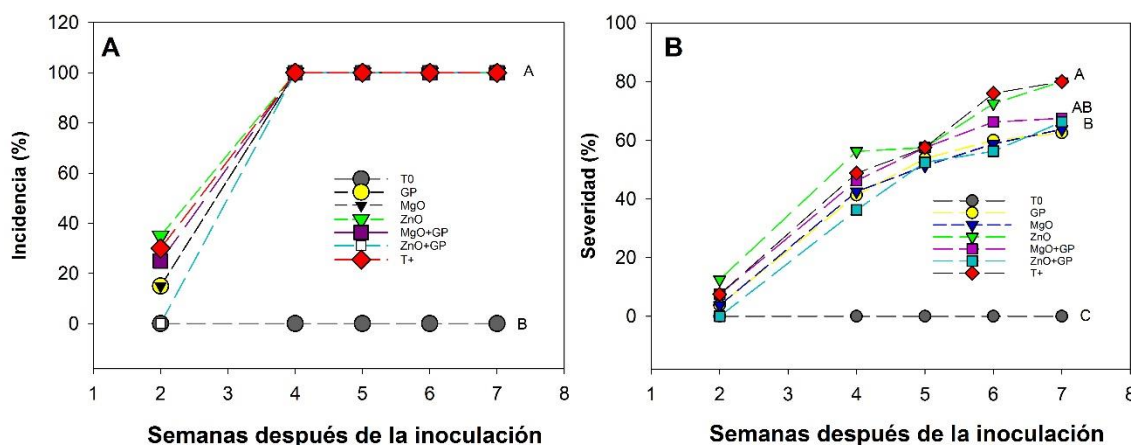


Figura 1. Incidencia (A) y severidad (B) de la enfermedad causada por *F. oxysporum* en plantas de tomate, a partir de la segunda semana posterior a la inoculación. T0: control absoluto; GP: nanopartículas de grafeno + FOL; MgO: nanopartículas de óxido de magnesio + FOL; ZnO: nanopartículas de óxido de zinc + FOL; MgO+GP: nanocompuestos de óxido de magnesio con grafeno + FOL; ZnO+GP: nanocompuestos de óxido de zinc con grafeno + FOL; T+: plantas inoculadas con FOL. Medias con letra común no son significativamente diferentes según la prueba de Hotelling ($p \leq 0.05$).

Parámetros agronómicos de la primera etapa

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. El T0 mostró una mayor altura. Dentro de los tratamientos inoculados ZnO+GP supera al resto, aumentando 41 % respecto a ZnO y 13.5 % respecto a T+ (Fig. 2 A). Para el caso de biomasa fresca y seca, T0 presentó el mayor contenido y entre los tratamientos inoculados el ZnO+GP superó a los demás (Figs. 2 B y C). Respecto al número de racimos, el T0 fue superior, mientras que entre los tratamientos inoculados no existieron diferencias (Fig. 2 D). En el número de hojas hubo diferencias significativas, el T0 fue el tratamiento más sobresaliente, mientras que en los tratamientos con NPs + FOL, el mejor fue ZnO+GP (Fig. 2 E). En el diámetro de tallo se observaron diferencias significativas, el T0 presentó la media más alta, no obstante, los tratamientos ZnO+GP y MgO incrementaron 7 % y 6 % comparados con el T+ (Fig. 2 F).

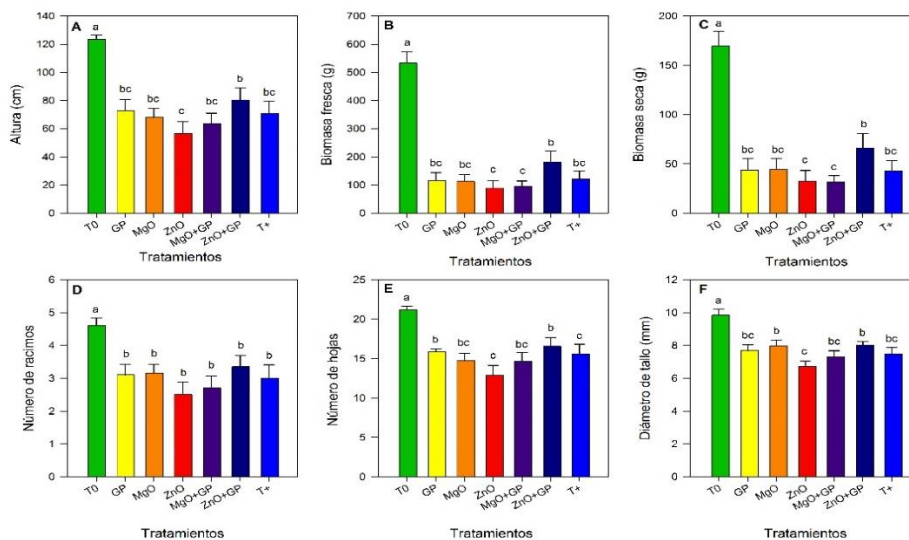


Figura 2. Altura de planta (A), biomasa fresca (B), biomasa seca (C), número de racimos (D), número de hojas (E) y diámetro de tallo (F) de plantas de tomate. T0: control absoluto; GP: nanopartículas de grafeno + FOL; MgO: nanopartículas de óxido de magnesio + FOL; ZnO nanopartículas de óxido de zinc + FOL; MgO+GP: nanocompuestos de óxido de magnesio con grafeno + FOL; ZnO+GP: nanocompuesto de óxido de zinc con grafeno + FOL; T+: plantas inoculadas con FOL. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher ($p \leq 0.05$).

Pigmentos fotosintéticos y biomarcadores de estrés de la primera etapa

El contenido de clorofila a mostro diferencias significativas en respuesta a los tratamientos, ZnO, T+, MgO+GP y ZnO+GP mostraron los valores más altos en esta variable, similares estadísticamente con el T0. El ZnO+GP supera con 14 % y 16 % al GP y al MgO (Fig. 3 A). Respecto al contenido de clorofila b se observaron diferencias significativas, ZnO+GP es similar al T0, superando al GP y MgO en un 20 % (Fig. 3 B). En el caso de β -carotenos no se presentaron diferencias significativas (Fig. 3 C).

En los resultados del contenido de peróxido de hidrógeno no hubo diferencias entre tratamientos (Fig. 3 D) pero fueron mayores que el T0. En cuanto al contenido de radicales superóxido se observó una reducción con la aplicación de ZnO, disminuyendo 17 % comparado con el T+, los tratamientos con nanopartículas no difieren significativamente entre sí (Fig. 3 E). El contenido de MDA aumentó significativamente en los tratamientos T+ y MgO+GP, aumentó 95 % y 101 % respecto al T0. Mientras que el GP redujo esta variable 22 % y 24 % en comparación a T+ y MgO+GP (Fig. 3 F).

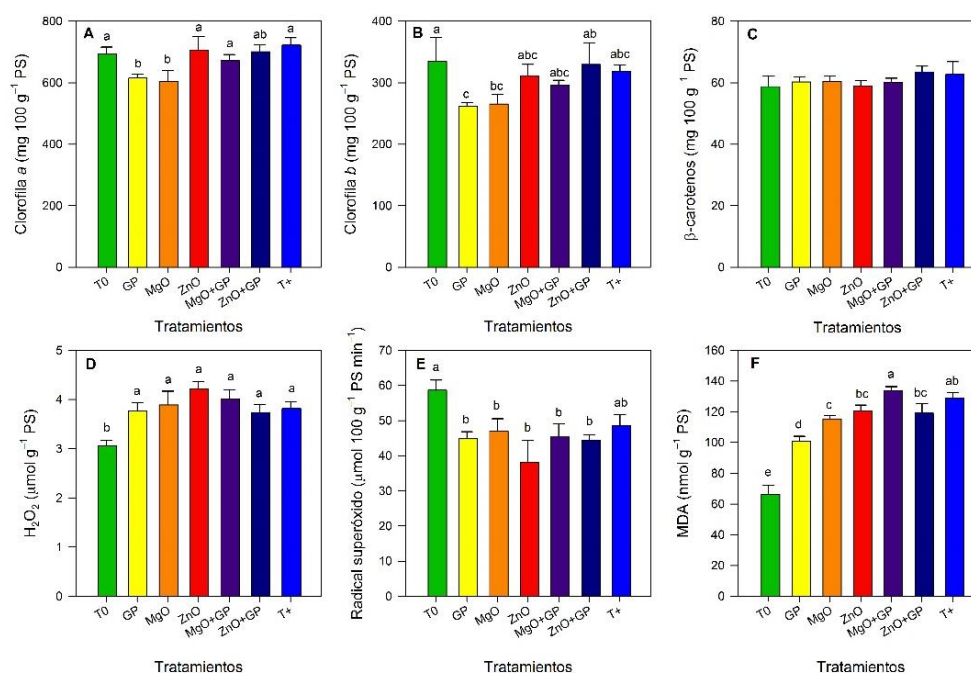


Figura 3. Contenido de clorofila a (A), clorofila b (B), β-carotenos (C), peróxido de hidrógeno (D), radical superóxido (E) y malondialdehído (F). T0: control absoluto; GP: nanopartículas de grafeno + FOL; MgO: nanopartículas de óxido de magnesio + FOL; ZnO: nanopartículas de óxido de zinc + FOL; MgO+GP: nanocompuestos de óxido de magnesio con grafeno + FOL ZnO+GP: nanocompuesto de óxido de zinc con grafeno + FOL T+: plantas inoculadas con FOL. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher ($p \leq 0.05$).

Incidencia y severidad de la enfermedad en la segunda etapa

Las diferencias fueron estadísticamente significativas entre tratamientos, el T+ presentó una incidencia superior desde la semana dos hasta la semana seis posterior a la inoculación, en la cual se alcanzó el 100 % de incidencia en todos los tratamientos. En la semana 5 el ZnO+GP a 200 mg L⁻¹ presentaba una reducción en la incidencia del 15 % respecto al T+ y 10 % respecto al CQ (Fig. 4 A). En la semana 12 la severidad de la enfermedad se redujo en un mayor grado con la aplicación de ZnO+GP a concentraciones bajas, sobresaliendo la de 200 mg L⁻¹, disminuyendo la afección 15 % y 10 % comparado con T+ y CQ. En

cuanto al tratamiento de 100 mg L⁻¹ se observó una eficiencia similar a la del control químico (Fig. 4 B), mientras que el T0 alcanzó una severidad por contaminación del 19 % (semana 12), indicando una infección accidental o secundaria debido a la presencia del patógeno en otros tratamientos.

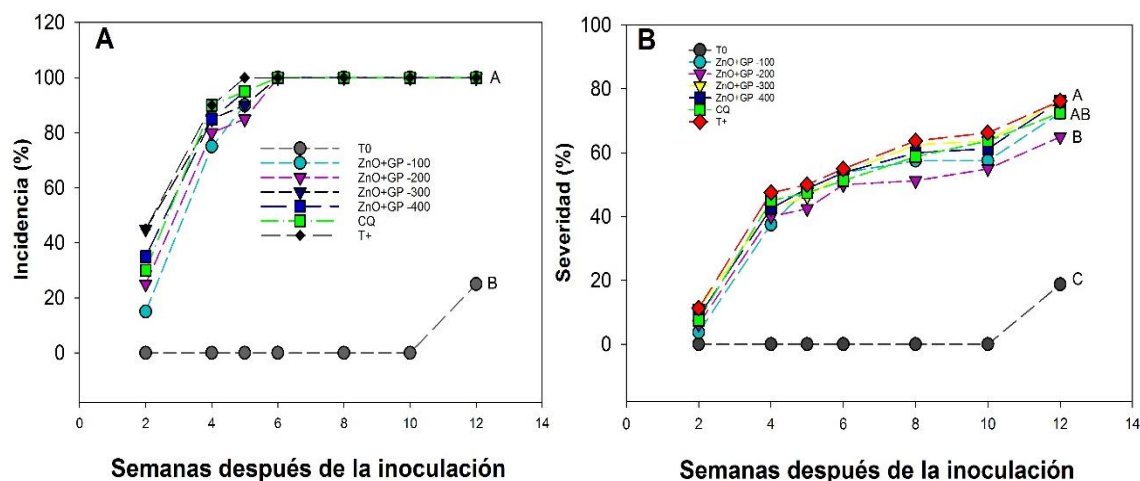


Figura 4. Incidencia (A) y severidad (B) de la enfermedad causada por *F. oxysporum* en plantas de tomate, a partir de la segunda semana posterior a la inoculación. T0: control absoluto; ZnO+GP-100 mg L⁻¹, ZnO+GP-200 mg L⁻¹, ZnO+GP-300 mg L⁻¹, ZnO+GP-400 mg L⁻¹: nanopartículas de óxido de zinc más grafeno, inoculado con FOL, aplicadas en 4 diferentes concentraciones; CQ: Control químico (Captán) en plantas inoculadas con FOL; T+: control positivo inoculado con FOL. Medias con letra común no son significativamente diferentes según la prueba de Hotelling ($p \leq 0.05$).

Parámetros agronómicos de la segunda etapa

La altura de la planta presentó diferencias significativas mediante la aplicación de los diferentes tratamientos. Destacando sobre los demás la aplicación de ZnO+GP en la concentración de 200 mg L⁻¹, con un valor estadísticamente similar al T0 y superando los tratamientos 300 mg L⁻¹ y 400 mg L⁻¹ con el 16 % y 8 % (Fig. 5 A). En el diámetro de tallo no se encontraron diferencias (Fig. 5 B).

En cuanto al número de hojas la aplicación de nanopartículas no modificó esta variable en las plantas inoculadas, sin embargo, el T0 presenta un incremento sobre estos tratamientos (Fig. 5 C).

En el caso de biomasa la tendencia es similar, la concentración 200 mg L⁻¹ presentó el mayor contenido comparándose con el T0. En biomasa seca la concentración de 300 mg L⁻¹ y el testigo con FOL redujeron el 23 % el peso seco respecto a la concentración de 200 mg L⁻¹ (Figs. 6 D y E).

El rendimiento fue mayor en los tratamientos ZnO+GP en concentraciones de 100 y 200 mg L⁻¹ igualándose estadísticamente con el T0. Sin embargo, estos mismos tratamientos no fueron estadísticamente diferentes de CQ y T+, pero si superiores a 300 mg L⁻¹ con un 40 % (Fig. 5 F).

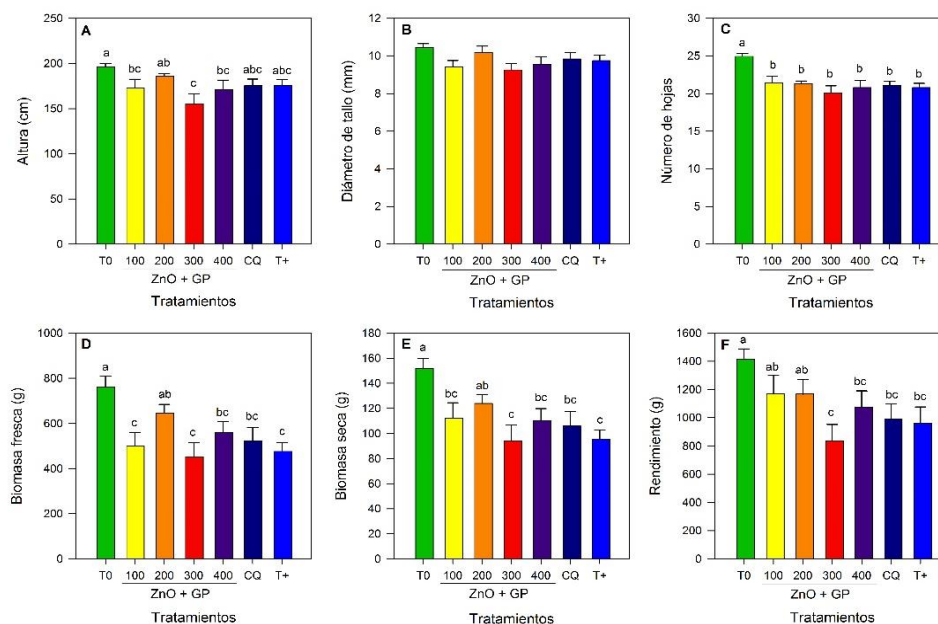


Figura 5. Altura de planta (A), diámetro de tallo (B), número de hojas (C), biomasa fresca (D), biomasa seca (E) y rendimiento de frutos (F) de plantas de tomate. T0: control absoluto; ZnO+G-100 mg L⁻¹, ZnO+GP-200 mg L⁻¹, ZnO+GP-300 mg L⁻¹, ZnO+GP-400 mg L⁻¹: nanopartículas de óxido de zinc más grafeno, inoculado con FOL, aplicadas en 4 diferentes concentraciones; CQ: Control químico (Captán) en plantas inoculadas con FOL; T+: control positivo inoculado con FOL. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher ($p \leq 0.05$).

Pigmentos fotosintéticos y biomarcadores de estrés de la segunda etapa

El índice de clorofila a aumentó con la aplicación de ZnO+GP a 200 mg L⁻¹, tratamiento que se da valores estadísticamente similares al T+ y CQ, superando al T0 con el 18 % (Fig. 6 A). Con base en el contenido de clorofila b el T0 presenta la media más alta (Fig. 6 B). En el contenido de β-carotenos los tratamientos inoculados con FOL no presentan diferencias significativas entre sí, pero todos superaron al T0 (Fig. 6 C).

El contenido de peróxido de hidrógeno no presenta diferencias significativas en sus medias por lo que los tratamientos son estadísticamente iguales (Fig. 6 D). Respecto a anión superóxido los tratamientos inoculados no presentan diferencias significativas entre sí, sin embargo, el control absoluto tuvo el nivel más bajo de este radical (Fig. 6 E). En el contenido de malondialdehído se observaron diferencias significativas, el CQ presenta el mayor contenido de MDA. Mientras que las concentraciones de 100, 300 y 400 mg L⁻¹ de ZnO+GP redujeron el contenido de este compuesto 27 %, 37 % y 23 % respecto al CQ (Fig. 6 F).

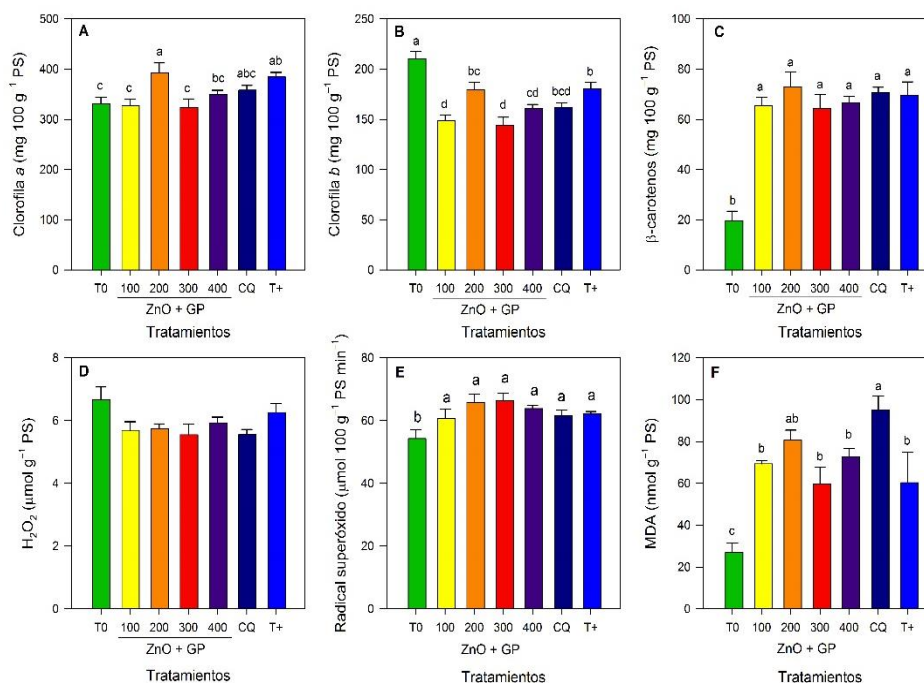


Figura 6. Contenido de clorofila a (A), clorofila b (B), β-carotenos (C), peróxido de hidrogeno (D), radical superóxido (E) y malondialdehído (F). T0: control absoluto; ZnO+GP-100 mg L⁻¹, ZnO+GP-200 mg L⁻¹, ZnO+GP-300 mg L⁻¹, ZnO+GP-400 mg L⁻¹: nanopartículas de óxido de zinc más grafeno, inoculado con FOL, aplicadas en 4 diferentes concentraciones; CQ: Control químico (Captán) en plantas inoculadas con FOL; T+: control positivo inoculado con FOL. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher ($p \leq 0.05$).

Compuestos antioxidantes de la segunda etapa

El contenido de fenoles no mostró diferencias significativas entre tratamientos (Fig. 7 A). En la cuantificación de flavonoides se encontraron diferencias estadísticamente significativas; el tratamiento de 200 mg L⁻¹ de ZnO+GP presentó la mayor concentración de flavonoides, 28 % y 12 % más que T0 y T+, respectivamente (Figura 7 B). En el ácido ascórbico se observaron diferencias entre tratamientos, el CQ representa la media más alta, sin embargo, ZnO+GP-

200 mg L⁻¹ presentó un mayor contenido de vitamina C que las otras concentraciones (Fig. 7 C).

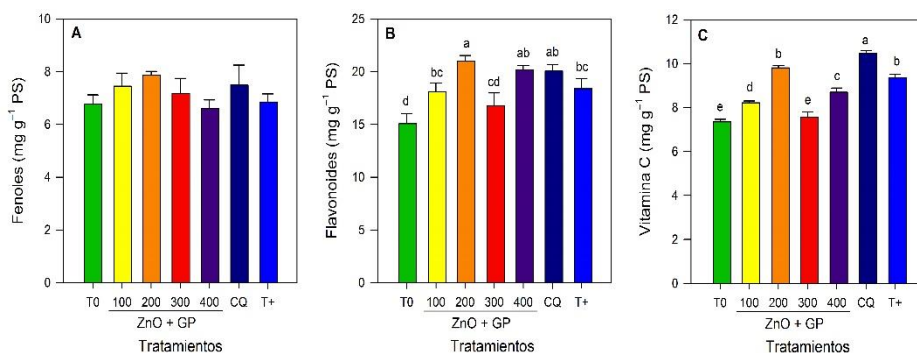


Figura 7. Contenido de fenoles (A), flavonoides (B) y ácido ascórbico (C). T0: control absoluto; ZnO+GP-100 mg L⁻¹, ZnO+GP-200 mg L⁻¹, ZnO+GP-300 mg L⁻¹, ZnO+GP-400 mg L⁻¹: nanopartículas de óxido de zinc más grafeno, inoculado con FOL, aplicadas en 4 diferentes concentraciones; CQ: Control químico (Captan) en plantas inoculadas con FOL; T+: control positivo inoculado con FOL. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher ($p \leq 0.05$).

DISCUSIÓN

Respuestas de las plantas a nivel morfológico

FOL es un fitopatógeno agresivo, responsable de pérdidas significativas en la producción y calidad de diversos cultivos, por lo que se requiere de estrategias que mitiguen los efectos de este organismo, además de los diferentes tipos de estrés biótico. La aplicación de nanopartículas es considerada una opción viable, funcional y económica para disminuir los efectos adversos de fitopatógenos. Este trabajo mostró disminuir la severidad de FOL en plantas de tomate (Figuras 1 A, B). El efecto benéfico está asociado a la capacidad antimicrobiana que exhiben los compuestos utilizados (Azizi-Lalabadi et al., 2020). Las nanopartículas se traslocan de la raíz a las partes superiores a través del sistema vascular (xilema), ingresando por endocitosis o penetrando directamente la membrana, dispersándose en el citoplasma (Wang et al., 2022).

El grafeno actúa por contacto directo siendo el mecanismo de acción más relevante sobre la célula microbiana, ya que provoca la ruptura de la pared y membrana celular, estrés oxidativo, inhibición enzimática, cambios en la fluidez de la membrana y disminución de la transcripción de ciertos genes (Maksimova, 2019). Las NPs de ZnO y MgO generan ROS que dañan estructuras celulares microbianas y activan vías de señalización como la del ácido salicílico (Fujikawa et al., 2021). Las ROS estimulan reacciones de defensa como la respuesta hipersensitiva, respuesta sistémica adquirida y/o metabolitos secundarios que participan en la defensa (Upadhyay et al., 2024).

El efecto de las nanopartículas en las plantas varía dependiendo el tamaño, forma, método de aplicación y dosis (Rastogi et al., 2017). En la segunda etapa de esta investigación podemos observar que las concentraciones más bajas de ZnO+GP, aumentaron la resistencia a la infección (Fig. 4 B). Este efecto es debido a que las NPs son compuestos que actúan bajo el principio de hormesis, fenómeno en el que exposiciones bajas de una sustancia estimulan y

concentraciones más altas perjudican o inhiben (Jalal et al., 2021). La clave está en encontrar la relación correcta concentración-respuesta (Calabrese, 2016) y se genera la adaptación y recuperación a la situación inadecuada bajo la que se encuentra la planta (Zulfiqar y Ashraf, 2021).

La respuesta positiva de las nanopartículas es gracias a que afectan procesos fisiológicos mediante la modulación del metabolismo, la interacción con proteínas citoplasmáticas, membranas y orgánulos que impactan la expresión génica y permiten la aclimatación (Khalid et al., 2022). El estudio de El-abeid y Ahmed (2020), demuestra que la severidad causada por FOL disminuyó en plantas de pimiento y tomate por el uso de nanocompuestos de CuO con nanoláminas de óxido de grafeno reducido (1 mg L^{-1} vía suelo). De igual forma González-García et al. (2022), reportan una reducción significativa en la incidencia de FOL mediante la aplicación de nanomateriales de carbono en tomate, además de incrementar variables agronómicas como el rendimiento.

El tratamiento inoculado (T+) redujo el crecimiento, debido a que el patógeno limita el desarrollo vegetal al bloquear el transporte de agua, desencadenando rendimientos mínimos o nulos (Hanan Aref, 2020). Sin embargo, con la aplicación de NPs de ZnO+GP y MgO se promovió el desarrollo de tallos, hojas y frutos en comparación con el T+ (Fig. 2). Diversos estudios declaran que la presencia de FOL afecta el crecimiento vegetal, provocando reducción en la altura, diámetro del tallo, número de hojas, rendimiento y biomasa (Cota-Ungson et al., 2023). En la segunda etapa de tratamientos, el ZnO+GP a 200 mg L^{-1} se muestra como el tratamiento más eficiente en variables de crecimiento, desarrollo y rendimiento (Fig. 5). Es decir los resultados siguen un patrón hormético, en el que la planta tolera el estímulo a cierto límite, después de este el daño supera los beneficios o simplemente no se genera una respuesta (Erofeeva, 2022). Naser et al. (2022) muestran en sus resultados la inhibición en el crecimiento de las plantas de neguilla (*Nigella arvensis*) mediante el uso de NPs de TiO_2 , aplicando 1000 mg L^{-1} , mientras que concentraciones de 100 mg L^{-1} lograron

estimular positivamente a la planta. Estos nanocompuestos poseen función bioestimulante, lo que provoca modificaciones morfológicas, bioquímicas, fisiológicas, epigenómicas, proteómicas y transcriptómicas que alteran favorablemente el metaboloma y la resiliencia de la plantas (Zhou et al., 2021), lo cual permite el aumento en el crecimiento, rendimiento y la inducción de tolerancia a situaciones adversas (Juárez-Maldonado et al., 2019). Guo et al. (2021), reportan el incremento de auxinas cuando aplicaron 50 y 100 mg L⁻¹ de óxido de grafeno en tomate, desencadenando un aumento en el crecimiento de tallos, raíces, frutos y biomásas. Así mismo Abeid et al. (2024), reportan la reducción más significativa de *Fusarium solani* y mejor desarrollo en plantas de tomate mediante aplicaciones de NPs de CuO en la concentración de 250 mg L⁻¹.

Respuestas de las plantas a nivel bioquímico

Los pigmentos fotosintéticos como la clorofila a, b y betacarotenos son fundamentales en la fotosíntesis y se ven afectados por la infección de patógenos, influyendo en la fisiología y salud de la planta (Chauhan et al., 2023). Esto es debido a que la eficiencia fotosintética está ampliamente relacionada con el crecimiento y rendimiento al convertir la energía luminosa en energía libre necesaria para la vida (Silva et al., 2018). La cantidad de clorofila puede verse afectada por situaciones estresantes, comprometiendo la capacidad de la planta para captar luz o para evitar fotooxidaciones nocivas (Ort et al., 2015). La fotosíntesis se reduce por presencia de patógenos cuando afectan tejidos foliares, reduciendo el área fotosintética, y aunque la planta puede mantener su función clorofílica con el tejido restante, el desarrollo general de la planta se verá afectado conforme progrese la infección, de inicio la clorosis disminuye la cantidad de clorofilas por cloroplasto y la muerte celular el número de células activas fotosintéticamente (Cheaib y Killiny, 2024).

Por lo antes mencionado, la disminución en el contenido de clorofila es común bajo situaciones estresantes, sin embargo, dentro del grupo de los tratamientos

inoculados; el T+, ZnO independiente y combinado con grafeno (en concentraciones de 100 y 200 mg L⁻¹) presentaron el contenido de pigmentos fotosintéticos más alto, lo que podría ser parte del ajuste fisiológico para mitigar la condición de estrés biótico, por lo que en ocasiones el contenido se mantiene ya que estos compuesto no se degradan inmediatamente e incluso pueden aumentar transitoriamente evitando la pérdida de la eficiencia fotosintética con un incremento de clorofilas (Bilgin et al., 2010) (Figs. 3 y 6). En los tratamientos con NPs de ZnO y GP (100 y 200 mg L⁻¹) los resultados positivos pueden ser el resultado de la capacidad del grafeno para facilitar la transferencia de electrones y depuración de ROS en el fotosistema II (Lu et al., 2020). Mientras que el ZnO suministra un nutriente esencial en la biosíntesis de clorofila, además de brindar protección antioxidante que disminuye la degradación de clorofilas (Abbas et al., 2023). Lu et al., (2020) afirman incrementos en la capacidad fotosintética por la aplicación de grafeno en plantas de arroz. Así mismo Rai-Kalal y Jajoo (2021), reportan incrementos en el contenido de clorofila por aplicaciones foliares de NPs de ZnO (10 mg L⁻¹) en trigo.

Las especies reactivas de oxígeno pueden dañar la célula ocasionando daño por acumulación, cuando estos compuesto exceden la capacidad de degradación (Linh et al., 2020). Los tratamientos con FOL presentaron un mayor contenido de peróxido de hidrógeno, lo que se comprueba con el incremento dado en el contenido de MDA; subproducto de la peroxidación lipídica, sin embargo, hubo una notable reducción en el contenido de MDA con la aplicación de ZnO, GP, MgO y ZnO+GP (Fig. 3). Mientras que en la segunda etapa el control químico presentó el valor más alto de MDA (Fig. 6), lo que indica un aumento de estrés oxidativo que alteró el equilibrio redox. Investigaciones reportan un incremento de H₂O₂ y MDA en tomate por la infección de FOL (Maqsood et al., 2020).

Por otro lado el radical superóxido es una ROS que puede dañar a proteínas y ADN, minimizando el desarrollo, productividad e incluso ocasionando la muerte de la planta (Shah y Gupta, 2023). El O₂^{•-} disminuyó en los tratamientos

inoculados con la aplicación de nanopartículas, lo que está ampliamente relacionado con la capacidad de los nanomateriales para activar el sistema de defensa antioxidante, acrecentando la reducción de este compuesto, de modo que el testigo sano pudo presentar niveles relativamente altos sin ocasionar daños significativos. Sin embargo, es normal que las ROS aumenten bajo situaciones de estrés (Sachdev et al., 2021). Como se observa en la segunda etapa donde el contenido de anión superóxido aumentó en las plantas inoculadas (Fig. 6 B).

Los nanomateriales (NMs) actúan como elicitores al activar mecanismos de defensa en las plantas, estimulando la biosíntesis de metabolitos secundarios (Ghorbanpour y Hadian, 2015). Modifican el metabolismo de la planta al aumentar la producción de compuestos antioxidantes (González-García et al., 2019). Esto a consecuencia del ligero estrés oxidativo que inducen (los NMs), funcionando como señal para activar mecanismos de defensa (Fujikawa et al., 2021). Las ROS aumentan los compuestos de defensa en la célula como respuesta al estrés. Este sistema defensivo transforma los compuestos oxidantes en sustancias menos tóxicas, reduciendo los efectos nocivos (Borges et al., 2023).

La inmunidad al ataque de patógenos requiere de la regulación del sistema de defensa, generación de ROS y producción de metabolitos secundarios, especialmente de compuestos polifenólicos (fenoles/flavonoides) que regulen el equilibrio redox, son compuestos defensivos que reducen la acumulación de micotoxinas evitando el daño oxidativo de la célula (Chrpová et al., 2021). Estos compuestos son parte de la respuesta activa de la planta y limitan el progreso de la enfermedad, proporcionando tolerancia a la infección (Kaur et al., 2022). Mediante el reconocimiento del estímulo, la señalización y activación de procesos moleculares y bioquímicos que protejan de la infección (Usman et al., 2023). En esta investigación se observan incrementos en el contenido de metabolitos como flavonoides y ácido ascórbico (Figs. 7 B, C). Los flavonoides son compuestos

bioactivos, defensivos antimicrobianos, que neutralizan sustancias tóxicas u oxidantes reduciendo el riesgo de daño celular (Tariq et al., 2023). El ácido ascórbico induce el crecimiento vegetal, además de ser un potente antioxidante que degrada ROS (H_2O_2) y disminuye el daño por oxidación en las plantas (Kanwal et al., 2024). González-García et al. (2019), reportan aumentos significativos de ácido ascórbico y flavonoides en tomate, luego de aplicaciones foliares de grafeno en concentraciones de 100 a 500 mg L⁻¹.

CONCLUSIÓN

La aplicación de nanocompuestos de ZnO y GP en plantas de tomate inoculadas con FOL, redujo la incidencia y severidad del mismo. A su vez incrementó variables agronómicas, e incluso aumentó el contenido de pigmentos fotosintéticos y redujo el de biomarcadores de estrés, permitiendo el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Los resultados comprueban la eficiencia de estos compuestos al impactar de forma positiva a los cultivos agrícolas, mitigando el daño ocasionado por patógenos. Las NPs son una opción viable, económica, que provee del nutriente y estimula al organismo, activando respuestas de defensa, impactando la producción, calidad de frutos y órganos de los cultivos de tomate.

En esta investigación se evaluaron diferentes concentraciones con la finalidad de encontrar un estándar más eficiente y confiable, dado que la aplicación de nanopartículas es un campo con gran potencial en la agricultura. Sin embargo, aún está en desarrollo y requiere investigación para definir las concentraciones óptimas, que logren la estimulación y garanticen una aplicación segura y sostenible.

REFERENCIAS

- A, A.C., B, Hamidreza SharifanA, Naser KarimiSC, hiva N.K., 2022. Uptake, translocation, phytotoxicity, and hormetic effects of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂NPs) in *Nigella arvensis* L. *Sci. Total Environ.* Volume 806.
- Abbas, S.F., Bukhari, M.A., Raza, M.A.S., Abbasi, G.H., Ahmad, Z., Alqahtani, M.D., Almutairi, K.F., Abd_Allah, E.F., Iqbal, M.A., 2023. Enhancing drought tolerance in wheat cultivars through nano-ZnO priming by improving leaf pigments and antioxidant activity. *Sustain.* 15.
- Acharya, A., Pal, P.K., 2020. Agriculture nanotechnology: translating research outcome to field applications by influencing environmental sustainability. *NanoImpact* 19.
- Alghuthaymi, M.A., Rajkuberan, C., Rajiv, P., Kalia, A., Bhardwaj, K., Bhardwaj, P., Abd-Elsalam, K.A., Valis, M., Kuca, K., 2021. Nanohybrid antifungals for control of plant diseases: current status and future perspectives. *J. Fungi* 7, 1–20.
- Alsaba, M.T., Al Dushaishi, M.F., Abbas, A.K., 2020. A comprehensive review of nanoparticles applications in the oil and gas industry. *J. Pet. Explor. Prod. Technol.* 10, 1389–1399.
- Anindita Hazarika, Meera Yadav, Dinesh Kumar Yadav, H.S.Y., 2022. An overview of the role of nanoparticles in sustainable agriculture. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 43.
- Argento, S., Melilli, M.G., Branca, F., 2019. Enhancing greenhouse tomato-crop productivity by using *Brassica macrocarpa* guss. Leaves for controlling root-knot nematodes. *Agronomy* 9, 1–13.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., Legret, P., 1994. Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents. *J. Pharm. Belg.* 49, 462–468.
- Azizi-Lalabadi, M., Hashemi, H., Feng, J., Jafari, S.M., 2020. Carbon nanomaterials against pathogens; the antimicrobial activity of carbon

- nanotubes, graphene/graphene oxide, fullerenes, and their nanocomposites. *Adv. Colloid Interface Sci.* 284, 102250.
- Bell, I.R., Ives, J.A., Jonas, W.B., 2014. Nonlinear effects of nanoparticles: biological variability from hormetic doses, small particle sizes, and dynamic adaptive interactions. *Dose-Response* 12, 202–232.
- Benavides-Mendoza, A., Lara, L., 2022. Introducción a los bioestimulantes agrícolas 1–169.
- Bilgin, D.D., Zavala, J.A., Zhu, J.I.N., Clough, S.J., Ort, D.R., Delucia, E.H., 2010. Biotic stress globally downregulates photosynthesis genes. *Plant Cell Physiol.* 33, 1597–1613.
- Borges, C.V., Orsi, R.O., Maraschin, M., Pace, G., Lima, P., 2023. Oxidative stress in plants and the biochemical response mechanisms. *Plant Stress Mitigators* 27, 455–468.
- Bubici, G., Kaushal, M., Prigigallo, M.I., Cabanás, C.G.L., Mercado-Blanco, J., 2019. Biological control agents against *Fusarium* wilt of banana. *Front. Microbiol.* 10.
- Calabrese, E.J., 2016. Preconditioning is hormesis part I: documentation, dose-response features and mechanistic foundations. *Pharmacol. Res.* 110.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W., 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383, 3–41.
- Campos, M.D., Félix, M. do R., Patanita, M., Materatski, P., Varanda, C., 2021. High throughput sequencing unravels tomato-pathogen interactions towards a sustainable plant breeding. *Hortic. Res.* 8.
- Campos, M.D., Félix, M.D.R., Patanita, M., Materatski, P., Albuquerque, A., Ribeiro, J.A., Varanda, C., 2022. Defense strategies: the role of transcription factors in tomato–pathogen interaction. *Biology.* 11.
- Carletti, P., García, A.C., Silva, C.A., Merchant, A., 2021. Editorial: towards a functional characterization of plant biostimulants. *Front. Plant Sci.* 12, 10–12.
- Carmona, S.L., Burbano-David, D., Gómez, M.R., Lopez, W., Ceballos, N., Castaño-Zapata, J., Simbaqueba, J., Soto-Suárez, M., 2020. Characterization of pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum*

- isolates associated with commercial tomato crops in the Andean Region of Colombia. *Pathogens* 9.
- Chauhan, J., Prathibha, M.D., Singh, P., Choyal, P., Mishra, U.N., Saha, D., Kumar, R., Anuragi, H., Pandey, S., Bose, B., Mehta, B., Dey, P., Dwivedi, K.K., Gupta, N.K., Singhal, R.K., 2023. Plant photosynthesis under abiotic stresses: damages, adaptive, and signaling mechanisms. *Plant Stress* 10.
- Cheaib, A., Killiny, N., 2024. Photosynthesis responses to the infection with plant pathogens. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 38, 9–29.
- Chen, X.R., Wang, Y., Kale, S.D., Fang, Y., Srivastava, V., 2023. Editorial: apoplastic effectors — what roles do they play in plant-pathogen interactions? *Front. Microbiol.* 14.
- Choudhary, A., Kumar, A., Kaur, N., 2020. ROS and oxidative burst: roots in plant development. *Plant Divers.* 42, 33–43.
- Chrpová, J., Orsák, M.P.M., Trávníčková, J.L. and M., 2021. Potential role and involvement of antioxidants and other secondary metabolites of wheat in the infection process and. *Agronomy* 11.
- Cota-Ungson, D., González-García, Y., Cadenas-Pliego, G., Alpuche-Solís, Á.G., Benavides-Mendoza, A., Juárez-Maldonado, A., 2023. Graphene–Cu nanocomposites induce tolerance against *Fusarium oxysporum*, increase antioxidant activity, and decrease stress in tomato plants. *Plants* 12, 1–23.
- De Corato, U., Patruno, L., Avella, N., Salimbeni, R., Lacollac, G., Cuccic, G., 2020. Soil management under tomato-wheat rotation increases the suppressive response against *Fusarium* wilt and tomato shoot growth by changing the microbial composition and chemical parameters. *Appl. Soil Ecol.* 154.
- Draviana, H.T., Fitriannisa, I., Khafid, M., Krisnawati, D.I., Widodo, Lai, C.H., Fan, Y.J., Kuo, T.R., 2023. Size and charge effects of metal nanoclusters on antibacterial mechanisms. *J. Nanobiotechnology* 21, 1–34.
- du Jardin, P., 2015. Scientia Horticulturae Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 196, 3–14.

- El-abeid, S.E., Ahmed, Y., 2020. Reduced graphene oxide nanosheet-decorated copper oxide nanoparticles : a potent antifungal nanocomposite against *Fusarium* root rot and wilt diseases of tomato and pepper plants. *Nanomaterials* 10.
- El-Abeid, S.E., Mosa, M.A., El-Tabakh, M.A.M., Saleh, A.M., El-Khateeb, M.A., Haridy, M.S.A., 2024. Antifungal activity of copper oxide nanoparticles derived from *Zizyphus spina* leaf extract against *Fusarium* root rot disease in tomato plants. *J. Nanobiotechnology* 22, 1–24.
- Erofeeva, E.A., 2022. Hormesis in plants: Its common occurrence across stresses. *Curr. Opin. Toxicol.* 30.
- Farhan, A., Ullah, E., Waqas, M., Ahmad, H., Munawar, J., 2022. Graphene-based nanocomposites and nanohybrids for the abatement of agro-industrial pollutants in aqueous environments. *Environ. Pollut.* 308.
- Fernandes, L.B., Ghag, S.B., 2022. Molecular insights into the jasmonate signaling and associated defense responses against wilt caused by *Fusarium oxysporum*. *Plant Physiol. Biochem.* 174, 22–34.
- Fujikawa, I., Takehara, Y., Ota, M., Imada, K., Sasaki, K., Kajiharab, H., 2021. Magnesium oxide induces immunity against *Fusarium* wilt by triggering the jasmonic acid signaling pathway in tomato. *J. Biotechnol.* 324, 100–108.
- Ghani, M.I., Saleem, S., Rather, S.A., Rehmani, M.S., Alamri, S., Rajput, V.D., Kalaji, H.M., Saleem, N., Sial, T.A., Liu, M., 2022. Foliar application of zinc oxide nanoparticles: an effective strategy to mitigate drought stress in cucumber seedling by modulating antioxidant defense system and osmolytes accumulation. *Chemosphere* 289.
- Ghorbanpour, M., Hadian, J., 2015. Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown in vitro. *Carbon.* 94.
- González-garcía, Y., Cadenas-pliego, G., Alpuche-solís, Á.G., Cabrera, R.I., 2022. Effect of carbon-based nanomaterials on *Fusarium* wilt in tomato. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 291.
- González-García, Y., López-Vargas, E.R., Cadenas-Pliego, G., Benavides-

- Mendoza, A., González-Morales, S., Robledo-Olivo, A., Alpuche-Solís, Á.G., Juárez-Maldonado, A., 2019. Impact of carbon nanomaterials on the antioxidant system of tomato seedlings. *Int. J. Mol. Sci.* 20.
- González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M.V., Juárez-Maldonado, A., Loredó-Treviño, A., Benavides-Mendoza, A., 2021. Transcriptomics of biostimulation of plants under abiotic stress. *Front. Genet.* 12.
- Guo, X., Zhao, J., Wang, R., Zhang, H., Baoyan, X., Naeem, M., Yao, T., Rongqing, L., Xu, R., Zhang, Z., Wu, J., 2021. Effects of graphene oxide on tomato growth in different stages. *Plant Physiol. Biochem.* 162.
- Hacisalihoglu, G., 2020. Zinc (Zn): The last nutrient in the alphabet and shedding light on zn efficiency for the future of crop production under suboptimal Zn. *Plants* 9, 1–9.
- Hanan Aref, H., 2020. Biology and integrated control of tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum lycopersici*: a comprehensive review under the light of recent advancements. *J. Bot. Res.* 3.
- Harinisri, K., Jayanthi, N., 2023. Diverse application of green nanotechnology – a review. *Mater. Today Proc.*
- Hayes, M., 2020. “Nanomaterials and environmental biotechnology”: edited by Indu Bhushan (Shri Mata Vaishno Devi University, India), Vivek Kumar Singh (Shri Mata Vaishno Devi University, India), Durgesh Kumar Tripathi (Amity University, India) *Nanotechnology in the Life Sciences Indu.*
- Hu, Z., Ma, Q., Foyer, C.H., Lei, C., Choi, H.W., Zheng, C., Li, J., Zuo, J., Mao, Z., Mei, Y., Yu, J., Klessig, D.F., Shi, K., 2021. High CO₂- and pathogen-driven expression of the carbonic anhydrase β CA3 confers basal immunity in tomato. *New Phytol.* 229, 2827–2843.
- Hung, C.-Y., Yen, G.-C., 2002. Antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Mesona procumbens* Hemsl. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2993–2997.
- INIFAP, 2022. Proceso de producción de jitomate orgánico con tecnología de cubierta.

- Jalal, A., Oliveira Junior, J.C. de, Ribeiro, J.S., Fernandes, G.C., Mariano, G.G., Trindade, V.D.R., Reis, A.R. dos, 2021. Hormesis in plants: physiological and biochemical responses. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 207.
- Jeger, M., Beresford, R., Bock, C., Brown, N., Fox, A., Newton, A., Vicent, A., Xu, X., Yuen, J., 2021. Global challenges facing plant pathology: multidisciplinary approaches to meet the food security and environmental challenges in the mid-twenty-first century. *CABI Agric. Biosci.* 2, 1–18.
- Juárez-Maldonado, A., Ortega-Ortíz, H., Morales-Díaz, A.B., González-Morales, S., Morelos-Moreno, Á., Cabrera-De La Fuente, M., Sandoval-Rangel, A., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., 2019. Nanoparticles and nanomaterials as plant biostimulants. *Plants* 20.
- Kalia, A., Abd-Elsalam, K.A., Kuca, K., 2020. Zinc-based nanomaterials for diagnosis and management of plant diseases: ecological safety and future prospects. *J. Fungi* 6, 1–29.
- Kanwal, R., Maqsood, M.F., Shahbaz, M., Naz, N., Zulfiqar, U., Ali, M.F., Jamil, M., Khalid, F., Ali, Q., Sabir, M.A., Chaudhary, T., Ali, H.M., Alsakkaf, W.A.A., 2024. Exogenous ascorbic acid as a potent regulator of antioxidants, osmo-protectants, and lipid peroxidation in pea under salt stress. *BMC Plant Biol.* 24, 1–16.
- Kashyap, B., Kumar, R., 2021. Sensing methodologies in agriculture for monitoring biotic stress in plants due to pathogens and pests. *Inventions* 6.
- Kaur, S., Kumar, M., Manoj, S., 2022. How do plants defend themselves against pathogens-biochemical mechanisms and genetic interventions. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 28, 485–504.
- Khalid, M.F., Iqbal Khan, R., Jawaid, M.Z., Shafqat, W., Hussain, S., Ahmed, T., Rizwan, M., Ercisli, S., Pop, O.L., Alina Marc, R., 2022. Nanoparticles: the plant saviour under abiotic stresses. *Nanomaterials* 12.
- Khiyami, M.A., Almoammar, H., Awad, Y.M., Alghuthaymi, M.A., Abd-Elsalam, K.A., 2014. Aticle; agriculture and environmental biotechnology plant pathogen nanodiagnostic techniques: forthcoming changes? *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 28, 775–785.

- Kim, M.J., Kim, W., Chung, H., 2020. Effects of silver-graphene oxide on seed germination and early growth of crop species. *plant Biol.* 2020, 1–14.
- Kiralan, M., Ketenoglu, O., 2022. Utilization of tomato (*Solanum lycopersicum*) by-products: an overview. *Mediterr. Fruits Bio-wastes Chem. Funct. Technol. Appl.* 799–818.
- Kumar, A., Verma, J.P., 2018. Does plant — Microbe interaction confer stress tolerance in plants : a review ? *Microbiol. Res.* 207, 41–52.
- Kun Lu, Danlei Shen, Shipeng Dong, Chunying Chen, Sijie Lin, Shan Lu, B.X.& L.M., 2020. Uptake of graphene enhanced the photophosphorylation performed by chloroplasts in rice plants. *Nano Res.* 13, 3198–3205.
- Kutawa, A.B., Ahmad, K., Ali, A., Hussein, M.Z., Wahab, M.A.A., Adamu, A., Ismaila, A.A., Gunasena, M.T., Rahman, M.Z., Hossain, M.I., 2021. Trends in nanotechnology and its potentialities to control plant pathogenic fungi: a review. *Biology.* 10.
- Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., Belabess, Z., Barka, E.A., 2022. Biological control of plant pathogens: a global perspective. *Microorganisms.*
- Li, X., Mu, L., Li, D., Ouyang, S., He, C., Hu, X., 2018. Effects of the size and oxidation of graphene oxide on crop quality and specific molecular pathways. *Carbon.* 140, 352–361.
- Linh, T.M., Mai, N.C., Hoe, P.T., Lien, L.Q., Ban, N.K., Hien, L.T.T., Chau, N.H., Van, N.T., 2020. Metal-based nanoparticles enhance drought tolerance in soybean. *J. Nanomater.* 2020.
- Liu, Y., Xin, J., Liu, L., Song, A., Guan, Z., Fang, W., Chen, F., 2020. A temporal gene expression map of *Chrysanthemum* leaves infected with *Alternaria alternata* reveals different stages of defense mechanisms. *Hortic. Res.* 7.
- Lu, S., Deng, H., Lin, Y., Huang, M., You, H., Zhang, Y., Zhuang, W., Lu, G., Yun, Y., 2023. A network of sporogenesis-responsive genes regulates the growth, asexual sporogenesis, pathogenesis and fusaric acid production of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *J. Fungi* 10, 1.
- Ma, M., Taylor, P.W.J., Chen, D., Vaghefi, N., He, J.Z., 2023. Major soilborne

- pathogens of field processing tomatoes and management strategies. *Microorganisms* 11.
- Maksimova, Y.G., 2019. Microorganisms and carbon nanotubes: interaction and applications (review). *Appl. Biochem. Microbiol.* 55, 1–12.
- Malandrakis, A.A., Kavroulakis, N., Chrysikopoulos, C. V., 2019. Use of copper, silver and zinc nanoparticles against foliar and soil-borne plant pathogens. *Sci. Total Environ.* 670, 292–299.
- Maqsood, A., Wu, H., Kamran, M., Altaf, H., Mustafa, A., Ahmar, S., Hong, N.T.T., Tariq, K., He, Q., Chen, J.T., 2020. Variations in growth, physiology, and antioxidative defense responses of two tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivars after co-infection of *Fusarium oxysporum* and meloidogyne incognita. *Agronomy* 10.
- MB Shine, Xueqiong Xiao, Pradeep Kachroo, A.K., 2018. Signaling mechanisms underlying systemic acquired resistance to microbial pathogens. *Plant Sci.* 279, 81–86.
- McGovern, R.J., 2015. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Prot.* 78, 78–92.
- Mugao, L., 2023. Morphological and Molecular Variability of *Alternaria solani* and *Phytophthora infestans* Causing Tomato Blights. *Int. J. Microbiol.* 2023.
- Nagata, M., Yamashita, I., 1992. Method Tomato Masayasu National NAGATA and Ichiji YAMASHITA of Vegetables rnemental plants and tea, ministry of agriculture, forestry and fisheries,. *Forestry* 39, 1–4.
- Nandini., B., Cahill David M, Wenrong Yangb, M.K., 2023. Graphene as a nano-delivery vehicle in agriculture – current knowledge and future prospects. *Crit. Rev. Biotechnol.* 43.
- Ort, D.R., Merchant, S.S., Alric, J., Zhu, G., Los, D., 2015. Redesigning photosynthesis to sustainably meet global food and bioenergy demand. *Biol. Sci.* 112.
- Pandit, M.A., Kumar, J., Gulati, S., Bhandari, N., Mehta, P., Katyal, R., Rawat, C.D., Mishra, V., Kaur, J., 2022. Major biological control strategies for plant pathogens. *Pathogens* 11, 1–21.

- Panno, S., Davino, S., Caruso, A.G., Bertacca, S., Crnogorac, A., Mandić, A., Noris, E., Matic, S., 2021. A review of the most common and economically important diseases that undermine the cultivation of tomato crop in the mediterranean basin. *Agronomy* 11, 1–45.
- Patel, Z.M., Mahapatra, R., Jampala, S.S.M., 2020. Role of fungal elicitors in plant defense mechanism, molecular aspects of plant beneficial microbes in *Agriculture. Plants*.
- Pieterse, C.M.J., Leon-Reyes, A., Van Der Ent, S., Van Wees, S.C.M., 2009. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat. Chem. Biol.* 5, 308–316.
- Premkumar, T., Geckeler, K.E., 2012. Graphene-DNA hybrid materials: assembly, applications, and prospects. *Prog. Polym. Sci.* 37, 515–529.
- Rai-Kalal, P., Jajoo, A., 2021. Priming with zinc oxide nanoparticles improve germination and photosynthetic performance in wheat. *Plant Physiol. Biochem.* 160, 341–351.
- Rajwade, J.M., Chikte, R.G., Paknikar, K.M., 2020. Nanomaterials: new weapons in a crusade against phytopathogens. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 104, 1437–1461.
- Rana, R.A., Siddiqui, M.N., Skalicky, M., Brestic, M., Hossain, A., Kayesh, E., Popov, M., Hejnak, V., Gupta, D.R., Mahmud, N.U., Islam, T., 2021. Prospects of nanotechnology in improving the productivity and quality of horticultural crops. *Horticulturae* 7, 1–19.
- Rani Sarkar, M., Rashid, M.H. or, Rahman, A., Kafi, M.A., Hosen, M.I., Rahman, M.S., Khan, M.N., 2022. Recent advances in nanomaterials based sustainable agriculture: an overview. *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.* 18.
- Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H.M., He, X., Mbarki, S., Brestic, M., 2017. Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Front. Chem.* 5, 1–16.
- Rawtani, D., Rao, P.K., Hussain, C.M., 2020. Recent advances in analytical, bioanalytical and miscellaneous applications of green nanomaterial. *TrAC -*

- Trends Anal. Chem.* 133, 116109.
- Ray, M.K., Mishra, A.K., Mohanta, Y.K., Mahanta, S., Chakrabartty, I., Kungwani, N.A., Avula, S.K., Panda, J., Pudake, R.N., 2023. Nanotechnology as a promising tool against phytopathogens: a futuristic approach to Agriculture. *Agric.* 13, 1–41.
- Sachdev, S., Ansari, S.A., Ansari, M.I., Fujita, M., Hasanuzzaman, M., 2021. Abiotic stress and reactive oxygen species: generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants* 10, 1–37.
- Salih, E., Mekawy, M., Hassan, R.Y.A., El-Sherbiny, I.M., 2016. Synthesis, characterization and electrochemical-sensor applications of zinc oxide/graphene oxide nanocomposite. *J. Nanostructure Chem.* 6, 137–144.
- Saqib, S., Nazeer, A., Zaman, W., Younas, M., Shahzad, A., 2022. Catalytic potential of endophytes facilitates synthesis of biometallic zinc oxide nanoparticles for agricultural application. *BioMetals* 35, 967–985.
- Secretaria de agricultura y desarrollo rural, 2023. El jitomate, hortaliza mexicana de importancia mundial.
- Servicio de información agroalimentaria y pesquera, 2022. Escenario mensual de productos agroalimentarios dirección de análisis estratégico. Secr. Agric. y Desarro. Rural 1–2.
- Shabeer, S., Tahira, R., Jamal, A., 2021. *Fusarium* spp. mycotoxin production, diseases and their management: an overview. *Pakistan J. Agric. Res.* 34, 278–293.
- Shah, A.A., Gupta, A., 2023. Secondary metabolite basis of elicitor- and effector-triggered immunity in pathogen elicitation amid infections. *Genet. Manip. Second. Metab. Med. Plant* 225–251.
- Sharma, B., Tiwari, S., Kumawat, K.C., Cardinale, M., 2023. Nano-biofertilizers as bio-emerging strategies for sustainable agriculture development: potentiality and their limitations. *Sci. Total Environ.* 860.
- Sharma, S., Gupta, N., 2020. Defense signaling in plants against micro-creatures: do or die. *Indian Phytopathol.* 73, 605–613.
- Silva, F.M. de O., Lichtenstein, G., Alseekh, S., Rosado-Souza, L., Conte, M.,

- Suguiyama, V.F., Lira, B.S., Fanourakis, D., Usadel, B., Bhering, L.L., DaMatta, F.M., Sulpice, R., Araújo, W.L., Rossi, M., de Setta, N., Fernie, A.R., Carrari, F., Nunes-Nesi, A., 2018. The genetic architecture of photosynthesis and plant growth-related traits in tomato. *Plant Cell Environ.* 41, 327–341.
- Singh, V.K., Singh, H.B., Upadhyay, R.S., 2017. Role of fusaric acid in the development of ‘Fusarium wilt’ symptoms in tomato: physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant Physiol. Biochem.* 118, 320–332.
- Sreevidya, S., Yadav, S., Sanwaria, S., Katre, Y., Kotasthane, A., Kumar, R.S., 2024. Phyto-nano-MgO quantum dots by ultrasonic formulation for evaluation of toxin In-Vivo/Vitro/Silico sequels. *Chem. Eng. J.* 483.
- Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C.D., Lakshmeesha, T.R., Singh, B.P., Kalagatur, N.K., Niranjana, S.R., Hashem, A., Alqarawi, A.A., Tabassum, B., Abd_Allah, E.F., Chandra Nayaka, S., 2019. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: biology to diversity– a review. *Saudi J. Biol. Sci.* 26, 1315–1324.
- Steiner, A.A., 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15, 134–154.
- Sun, Q., Li, J., Le, T., 2018. Zinc oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: current advances and future perspectives. *Agric. Food Chem.* 66, 11209–11220.
- Sushma Sharma, Divjot Kour, Kusam Lata Rana, Anu Dhiman, Shiwani Thakur, Priyanka Thakur, Sapna Thakur, Neelam Thakur, Surya Sudheer, Neelam Yadav, A.N.Y.A. i A.R.& K.S., 2019. *Trichoderma*: biodiversity, ecological significances, and industrial applications. *Recent Adv. Whi te Biotechnol. Through Fungi* 121–179.
- Tariq, H., Asif, S., Andleeb, A., Hano, C., 2023. Flavonoid production : current trends in plant metabolic engineering and de novo microbial production. *Metabolites* 13.

- Upadhyay, R., Saini, R., Shukla, P.K., Tiwari, K.N., 2024. Role of secondary metabolites in plant defense mechanisms: a molecular and biotechnological insights. *Phytochem. Rev.* 24, 953–983.
- Usman, M., Aqeel, M., Shahzad, M., Jeelani, G., 2023. Molecular regulation of antioxidants and secondary metabolites act in conjunction to defend plants against pathogenic infection. *South African J. Bot.* 161.
- Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S.A., Rehman, H. ur, Ashraf, I., Sanaullah, M., 2020. Nanotechnology in agriculture: current status, challenges and future opportunities. *Sci. Total Environ.* 721, 137778.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Sci.* 151, 59–66.
- Wang, L., Ning, C., Pan, T., Cai, K., 2022. Role of silica nanoparticles in abiotic and biotic stress tolerance in plants: a review. *Int. J. Mol. Sci.* 23.
- Wilson, S.K., Pretorius, T., Naidoo, S., 2023. Mechanisms of systemic resistance to pathogen infection in plants and their potential application in forestry. *BMC Plant Biol.* 23, 1–13.
- Yakhin, O.I., Lubyantsev, A.A., Yakhin, I.A., Brown, P.H., 2017. Biostimulants in plant science: a global perspective. *Front. Plant Sci.* 7.
- Yiyang Yu, Ying Gui, Zijie Li, Chunhao Jiang, Jianhua Guo, Dongdong Niu 1, 2, 3, 2022. Induced systemic resistance for improving plant immunity by beneficial microbes. *Plants* 11, 1–19.
- Yu, Z., Dahlgren, R.A., 2000. Evaluation of methods for measuring polyphenols in conifer foliage. *J. Chem. Ecol.* 26, 2119–2140.
- Zhou, R., Ferrante, A., Wani, S.H., Benavides-Mendoza, A., González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M.V., Juárez-Maldonado, A., Loredot-Treviño, A., 2021. Transcriptomics of biostimulation of plants under abiotic stress. *Front. Genet.* 12.
- Zulfiqar, F., Ashraf, M., 2021. Nanoparticles potentially mediate salt stress tolerance in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 160, 257–268.