

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Inducción de Tolerancia a *Botrytis cinerea* Pers. (Bc) en el Cultivo de Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con el uso de Nanotubos de Carbono

Por:

**ALEJANDRA SÁNCHEZ REYNA**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Inducción de Tolerancia a *Botrytis cinerea* Pers. (Bc) en el Cultivo de Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con el uso de Nanotubos de Carbono

Por:

**ALEJANDRA SÁNCHEZ REYNA**

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

Dra. Yolanda González García

Asesor Principal Externo

Dr. Fabian Perez Labrada

Coasesor

Dr. Jesús Valdés Reyna

Coasesor

Dr. Jerónimo Landeros Flores

Coordinador Interino de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2023

## **Derechos de Autor y Declaración de no plagio**

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y 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 presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

Autor principal

  
Alejandra Sánchez Reyna

Asesor principal

  
Dr. Antonio Juárez Maldonado

## **DEDICATORIA**

A mi familia.

Porque nunca estuve sola, somos legión.

Sus esfuerzos son extraordinarios.

Logre superar mis propias expectativas a través de su apoyo, confianza y amor.

Profunda y repetidamente GRACIAS.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi noble alma mater la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por admitirme y formarme académicamente.

Al doctor Antonio Juárez Maldonado, por la oportunidad, confianza y conocimiento que me brindo para desarrollarme en este proyecto de investigación.

A la doctora Yolanda González García, por recibirme, apoyarme e instruirme desde el momento uno, motivando e inspirándome.

Al doctor Jesús Valdés Reyna y al doctor Fabián Pérez Labrada, por su experta orientación.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	IX
RESUMEN .....	X
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Objetivo General .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Objetivos Específicos .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Hipótesis .....</b>	<b>3</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Tomate.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Patógenos del cultivo de tomate .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3. <i>Botrytis cinerea</i>.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4. Métodos de control de patógenos.....</b>	<b>9</b>
<b>2.5. Bioestimulantes.....</b>	<b>10</b>
<b>2.6. Nanotecnología .....</b>	<b>11</b>
<b>2.7. Nanomateriales de carbono.....</b>	<b>12</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1. Establecimiento del experimento .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2. Material vegetal.....</b>	<b>14</b>
<b>3.3. Nanomateriales de Carbono.....</b>	<b>14</b>
<b>3.4. Desarrollo del cultivo .....</b>	<b>15</b>
<b>3.5. Evaluación de incidencia y severidad de <i>Botrytis cinerea</i>.....</b>	<b>15</b>
<b>3.6. Variables agronómicas.....</b>	<b>16</b>
<b>3.7. Pigmentos fotosintéticos.....</b>	<b>16</b>
<b>3.8. Peróxido de hidrógeno .....</b>	<b>17</b>
<b>3.9. Fenoles totales.....</b>	<b>17</b>

<b>3.10. Flavonoides</b> .....	17
<b>3.11. Vitamina C</b> .....	18
<b>3.12. Análisis estadístico</b> .....	18
<b>4. RESULTADOS</b> .....	19
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	30
<b>6. CONCLUSIÓN</b> .....	34
<b>7. LITERATURA CITADA</b> .....	35

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Taxonomía del tomate .....	5
---	---

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfología de nanotubos de carbono utilizados .....	14
<b>Figura 2.</b> Incidencia (A) y severidad (B) de <i>Botrytis cinerea</i> en plantas de tomate.....	20
<b>Figura 3.</b> Número de frutos por planta (A) y rendimiento (B) en plantas de tomate.....	20
<b>Figura 4.</b> Altura de plantas de tomate .....	21
<b>Figura 5.</b> Diámetro de tallo en plantas de tomate. ....	22
<b>Figura 6.</b> Número de hojas en plantas de tomate.....	23
<b>Figura 7.</b> Número de racimos en plantas de tomate.....	23
<b>Figura 8.</b> Biomasa fresca en plantas de tomate.....	24
<b>Figura 9.</b> Biomasa seca en plantas de tomate .....	25
<b>Figura 10.</b> Contenido de pigmentos en plantas de tomate .....	26
<b>Figura 11.</b> Contenido de peróxido de hidrógeno en plantas de tomate. ....	27
<b>Figura 12.</b> Contenido de fenoles en plantas de tomate. ....	30
<b>Figura 13.</b> Contenido de flavonoides en plantas de tomate .....	28
<b>Figura 14.</b> Contenido de vitamina C en plantas de tomate .....	29

## RESUMEN

*Solanum lycopersicum* L. es un cultivo económicamente importante a nivel mundial que continuamente se encuentra amenazado por estrés biótico o abiótico, situaciones que afectan negativamente la productividad y el desarrollo de la planta. *Botrytis cinerea* Pers. (Bc), es un hongo fitopatógeno causante del moho gris, padecimiento que genera significativas pérdidas económicas antes y después de la cosecha en tomate y otros cultivos importantes. La nanotecnología representa un área de oportunidad en el sector agrícola que maximiza rendimientos y disminuye daños ocasionados por plagas y enfermedades, mediante estimulaciones fisiológicas y bioquímicas que resultan además en una mayor productividad, los nanomateriales de carbono (NMC) pueden ser aplicados en las plantas y mejorar el crecimiento de las mismas, además pueden activar el sistema de defensa antioxidante, mejorando la adaptación y tolerancia a patógenos. La finalidad del presente trabajo fue evaluar la actividad biológica y de control de los nanotubos de carbono en plantas de tomate infectadas con *Botrytis cinerea*, a una concentración de 100 mg L<sup>-1</sup> vía foliar. La respuesta de las plantas a los nanotubos de carbono (CNT) mostró una disminución en la incidencia y severidad del patógeno, además de incrementos en el número de frutos, rendimiento, diámetro de tallo, número de hojas, biomasa y pigmentos fotosintéticos. Por lo que la aplicación de CNT resulta biocompatible y conveniente para incrementar el desarrollo vegetativo, reproductivo, la calidad y defensa de las plantas a estrés biótico.

Palabras clave: Nanotecnología; nanomateriales de carbono; hongos fitopatógenos; estrés biótico; bioestimulación.

## 1. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de la familia Solanaceae, es una hortaliza con gran importancia económica ya que es un ingrediente básico en la dieta humana y su uso es diverso dentro de la cocina. Fue domesticado en Mesoamérica y por ello México tiene una enorme variedad de sabores, calibres y colores. Es una fuente de minerales, vitaminas, antioxidantes y posee gran calidad nutracéutica (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020). La mayor producción de tomate a nivel internacional es generada por Estados Unidos de Norteamérica, China, Italia, Turquía, Egipto y España, mientras que a nivel nacional los principales estados productores son; Sinaloa, San Luis Potosí, Michoacán, Zacatecas y Jalisco (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2019). Es la segunda hortaliza más utilizada en el mundo, por lo cual su producción ha incrementado cultivándose en diversos medios y circunstancias, esta multiplicidad ha traído consigo diferentes bioagresores que han alterado la ocurrencia o problemática fitosanitaria (Blancard, 2012).

El tomate es una planta susceptible a múltiples patógenos, fúngicos y bacterianos, además de virus, los cuales generan enfermedades que ocasionan una disminución en la productividad y calidad de la hortaliza, que puede convertirse en pérdida total, esto dependiendo de la agresividad del fitopatógeno y si es o no manejado adecuadamente (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2013). En la producción de tomate las plagas y enfermedades son las principales causas de pérdidas poscosecha y durante la comercialización (Gatahi, 2020).

Particularmente *Botrytis cinerea* Pers. (Bc) es un hongo filamentoso, multicelular, eucarionte y patogénico, causante del moho gris de cultivos hortícolas y frutícolas de alta importancia económica. Genera pérdidas importantes antes y después de la cosecha debido a su capacidad de progresar tanto en campo como en el almacenaje (Benito et al., 2000). *B. cinerea* es un hongo que impacta a más de 1400 especies vegetales (Ripardo-

Filho et al., 2023), mediante diferentes mecanismos de infección difíciles de controlar, ya que ataca sin importar la etapa de desarrollo de la planta, infectando cualquier parte de ella e iniciando así el ciclo de afección (Calvo Garrido, 2015).

La nanotecnología es un área multidisciplinar, aplicada a nivel de nanoescala que trabaja y manipula estructuras moleculares y sus átomos, es decir la nanociencia comprende escalas de pocos nanómetros mientras la nanotecnología los manipula (Abobatta, 2019). Una de las aplicaciones más prometedoras de la nanotecnología son en la producción agrícola, tratamiento de aguas, detección y control de plagas y enfermedades (Maubert et al., 2009). Esta ciencia ofrece ventajas en el sector agrícola al reducir insumos, maximizar rendimientos y no causar disturbios en el ecosistema (Acharya y Pal, 2020).

Uno de los usos con mayor potencial en la agricultura es mediante la aplicación de distintos nanomateriales que pueden considerarse bioestimulantes, puesto que en cantidades adecuadas induce el crecimiento y aumenta la tolerancia a diferentes tipos de estrés a los que se ven sometidas las plantas (Juárez-Maldonado et al., 2019). Un bioestimulante es aquella sustancia orgánica, inorgánica u organismo que aplicado en plantas mejora su adaptación y tolerancia a situaciones de estrés biótico o abiótico (Du Jardin, 2015). La bioestimulación implica modificaciones metabólicas que proporcionan beneficios significativos y tolerancia a ambientes desfavorables (Juárez-Maldonado et al., 2019). Dichos cambios promueven el aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS), induciendo la producción de compuestos de defensa como las fitohormonas, metabolitos y a consecuencia la inhibición o muerte de microorganismos, cuando se trata de estrés biótico (Jordan et al., 2018). A su vez, promueve la obtención de nutrientes y apoya el metabolismo haciendo que la planta se vuelva más resistente mediante regulaciones bien dosificadas (Juárez-Maldonado et al., 2021). Los nanomateriales de carbono son una buena opción de bioestimulante ya que disponen de la posibilidad de realizar modificaciones en la fotosíntesis, lo cual incrementa la productividad, del mismo modo altera el sistema de defensa antioxidante, favoreciendo y defendiendo a las plantas de situaciones negativas estimulando una respuesta positiva. Los nanomateriales y nanopartículas han demostrado ser eficientes mitigando estrés e incrementando la calidad y productividad de los cultivos (Méndez-López et al., 2022).

Existen diferentes tipos de nanomateriales de carbono (NMC), los más utilizados en la agricultura son: nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT), nanotubos de carbono de pared simple (SWCNT), grafeno, grafito, fullereno y nanopartículas de carbono. Los nanotubos de carbono (CNT), son alótropos de carbono con excelentes propiedades electrónicas, mecánicas y químicas. Son el resultado del enrollamiento de una lámina de átomos de carbono que pueden ser de una o múltiples capas de grafeno (Martín, 2011). Los CNT se han utilizado y se continúan utilizando en la agricultura a pesar de su poca solubilidad, la cual se ha modificado a modo que sean más dispersos en agua para una mejor aplicación (Andrade Guel et al., 2012). Los CNT se han utilizado en diversos cultivos por su capacidad de inducir tolerancia a patógenos, ya que ocasionan una serie de cambios en el sistema de defensa de la planta a nivel fisiológico, bioquímico y genético (Verma et al., 2019), modificando las propiedades de la membrana plasmática de la célula vegetal, fomentando la absorción de agua y nutrientes en las plantas, además de mejorar la absorción de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), resultando en mayor crecimiento y desarrollo de las plantas (Martínez-Ballesta et al., 2016).

### **1.1. Objetivo General**

Determinar el impacto de la aplicación de nanotubos de carbono sobre el control de *Botrytis cinerea* en tomate.

### **1.2. Objetivos Específicos**

Determinar el efecto de los nanomateriales de carbono sobre la incidencia y severidad de *Botrytis cinerea* en plantas de tomate.

Evaluar el crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate inoculadas con *Botrytis cinerea*.

Determinar los cambios en el contenido de antioxidantes de las plantas de tomate inoculadas con *Botrytis cinerea*.

### **1.3. Hipótesis**

La aplicación de nanomateriales de carbono inducirá respuestas que incrementaran la capacidad de tolerancia de *Solanum lycopersicum* a *Botrytis cinerea*.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Tomate

El tomate *Solanum lycopersicum* L. es una solanácea originaria de América del Sur, fue domesticada en Centroamérica y México. Representa a una familia de plantas con amplia importancia en la agricultura mundial y la alimentación humana (Knapp et al., 2004). Es una de las plantas hortícolas más importantes del mundo no solo por su uso como alimento sino como material de investigación, por lo que su producción y consumo aumenta día con día (Gerszberg et al., 2015). Es un cultivo importante por su inmenso uso, relevancia económica y por su valor nutrimental como alimento funcional, que proporciona antioxidantes, vitaminas y minerales (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022). La clasificación taxonómica del tomate se extiende en el cuadro 1:

**Cuadro 1.** Taxonomía del tomate (Tropicos, 2023).

Clase: Equisetopsida C. Agardh.
Subclase: Magnoliidae Novák <i>ex</i> Takhtajan.
Superorden: Asteranae Takht.
Orden: Solanales Juss. <i>ex</i> Bercht. & J. Presl.
Familia: Solanáceas Jussieu.
Género: <i>Solanum</i> L.
Especie: <i>lycopersicum</i> L.
Nombre científico: <i>Solanum lycopersicum</i> L.
Sinonimia: <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.

Esta planta es considerada perenne ya que puede ser cosechada durante varios años, aunque generalmente es cultivada de forma anual. Posee una raíz pivotante, axonomorfa o raíz primaria, es decir la raíz principal produce raíces laterales y adventicias las cuales no provienen del embrión. El tallo de crecimiento es erecto y postrado puede alcanzar una altura de 4 metros, es sólido, grueso y con tricomas. Las hojas son alternas al tallo y compuestas, formadas por folíolos que constituyen una sola hoja con un gran número de tricomas, están dispuestas en un mismo raquis imparipinnadas, es decir, desarrollan un último folíolo que corona el final del raquis, siendo así en número de hojas impar. La inflorescencia es un racimo y produce de seis a doce flores bisexuales. El fruto es una baya, gruesa y carnosas, de diferentes formas, calibres y colores según la variedad, constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas (Naika et al., 2005).

Los países que generan la mayor producción de tomate son China (67, 538, 340 t/año), India (21, 181, 000 t/año) Turquía (13, 095, 258) y Estados Unidos de Norteamérica (10, 475, 265 millones t/año), por destacar algunos, México ocupa la octava posición en esta categoría (4, 754, 380 t/año) e internamente Sinaloa, Sonora, Nayarit, Oaxaca, Michoacán, Guerrero, San Luis Potosí, Zacatecas, Baja California, Jalisco y Morelos son los estados con mayor producción de esta planta, los cuales cubren la demanda en el mercado interno y asimismo participan en el mercado internacional (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2019).

El consumo de *S. lycopersicum* continúa creciendo y de esta forma su producción, México destaca en el rubro de exportación, al registrar ventas sobresalientes, es un cultivo importante para el país por su aportación en valor, por lo que el tomate se ha establecido en su máximo volumen históricamente, con distintos comportamientos de manejo ya sea agricultura protegida o en campo abierto (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura, 2017). Al término del 2020 se convirtió en la hortaliza con mayor tecnificación y de las más remunerables, obtuvo 3 millones 271 mil toneladas en una superficie de 45 mil hectáreas sembradas, de las cuales un tercio se ubica en agricultura protegida, este método es mayormente utilizado ya que minimiza restricciones climáticas y ejerce mayor control (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022).

## **2.2. Patógenos del cultivo de tomate**

La presencia de patógenos (hongos, bacterias y virus) en el cultivo de tomate genera afecciones que causan alteraciones anatómicas y de procesos fisiológicos como la germinación, el crecimiento y desarrollo de la planta. Para que inicie la infección y se desarrolle debe existir un hospedante susceptible, un patógeno potencial y condiciones ambientales convenientes (Rossini et al., 2010).

Los patógenos son organismos que dañan el funcionamiento de su hospedero, son diversos, ocupan todos los entornos y pueden ser facultativos (no generan daño), necrotróficos (prefieren tejidos senescentes dañan hasta matar el vegetal para alimentarse de sus restos) u obligados (aquellos que requieren del hospedero para cumplir su ciclo de vida) (Balloux y van Dorp, 2017).

A consecuencia de sus propiedades genéticas *S. lycopersicum* es afectado por múltiples enfermedades, por lo que la identificación de síntomas, distribución y transmisión de patógenos es imprescindible para lograr un control satisfactorio. Los padecimientos del cultivo de tomate son generalmente ocasionados por microorganismos de tipo bacteriano (principalmente *Clavibacter michiganensis*, *Xanthomonas* spp o *Pseudomonas syringae*), fúngicos (representados por *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* o *Fusarium oxysporum*), y virales (destacando el virus de la marchitez manchada del tomate) (Panno et al., 2021). Estas afecciones provocan lesiones y defoliación, daños en los frutos e incluso la muerte de la planta, lo cual disminuye la actividad fotosintética y a consecuencia el rendimiento convirtiéndose en un desafío por las limitadas opciones de control o cultivares resistentes (Griffin et al., 2017).

### **2.3. *Botrytis cinerea***

*Botrytis cinerea* pertenece a la familia Sclerotiniaceae, de la clase Leotiomycetes y al género *Botrytis*, el cual comprende 32 especies. Los integrantes de este género poseen una amplia gama de huéspedes (Cheung et al., 2020), es potencialmente dañino por ser un hongo polífago, con múltiples modos de infección, alta reproductividad y con la facultad de sobrevivir largos periodos de tiempo como conidio, ascospora o esclerocio, su ciclo de vida se divide en anamorfo (asexual) y teleomorfo (sexual), en su proceso asexual se producen macroconidios, esclerocios y microconidios, mientras que en el

proceso sexual se generan microconidios que fertilizan a los esclerocios formando apotecios, que al ser divididos en el proceso de meiosis resultan ascosporas. Afecta a 586 géneros representados por más de 1400 especies de plantas en las que el patógeno se manifiesta principalmente mediante apoptosis, pudrición y acuosidad de tejidos vegetales (Ripardo-Filho et al., 2023).

*B. cinerea* es causante de la podredumbre o moho gris, es un hongo fitopatógeno que infecta toda la planta y en cualquier etapa de desarrollo del cultivo, ocasiona pérdidas económicas sustanciales durante y después de la cosecha (Benito et al., 2000). El moho gris se forma en los tejidos o en cualquier material vegetal, sus esporas se transportan a largas distancias por actividad mecánica, salpicaduras de agua o por el viento, se adhieren en el huésped, penetrando el tejido vegetal mediante heridas o aberturas previas (Bernal, 2009), existiendo brevemente como agente biotrófico progresando a una fase necrotrófica (Cheung et al., 2020).

*B. cinerea* puede desarrollarse en las semillas y colonizar sistémicamente la planta hospedera sin ningún signo de enfermedad, solo causando síntomas en frutos lo que dificulta su control, ingresa de forma temprana, se mantiene inerte hasta que el ambiente es adecuado y cuando la fisiología del receptor se modifica, manifiesta daños antes o después de la cosecha, por lo que los frutos supuestamente sanos pueden presentar podredumbre (Williamson et al., 2007). La manifestación de *B. cinerea* comienza con cubiertas aterciopeladas en hojas senescentes, en las flores se puede presentar lesiones color café que pueden progresar hasta el pedicelo, ocasionando la caída de la flor y futuro fruto. Por otro lado, el fruto maduro puede presentar daños físicos en los que la cubierta presenta moho gris pubescente y ablandamiento, este fitopatógeno prospera hasta dejar marchito y seco al receptor. En el fruto recolectado y almacenado la presencia del hongo varía y se percibe atípico, el moho gris en esta situación se torna blanco por la falta de luz (Koike y Bolda, 2016).

*B. cinerea* es el responsable de la descomposición de frutas y hortalizas en campo o después de la cosecha, perdiendo por completo calidad, ya que la podredumbre es progresiva y contagiosa. *B. cinerea* ocupa el segundo lugar dentro de los patógenos del mundo en términos de importancia científica y económica, además de que a lo largo del tiempo ha generado resistencia a múltiples fungicidas (Romanazzi y Feliziani, 2014).

## 2.4.Métodos de control de patógenos

El control de una enfermedad requiere de la aplicación de diferentes herramientas como el monitoreo, diagnóstico, control químico, biológico, físico y cultural, de forma exclusiva o inclusiva. Exige llevar a cabo una identificación acertada y oportuna para lograr controlar, reducir o incluso suprimir la incidencia de la afección (Obregón, 2018).

Los métodos de control utilizados a lo largo del tiempo y progresivamente desde su descubrimiento, han sido el uso de productos o sustancias químicas, método que se convirtió en el más aplicado para reducir o eliminar patógenos, en las diferentes etapas de desarrollo de la planta (Gepp, 2000).

Los plaguicidas químicos mayormente utilizados son compuestos heterocíclicos nitrogenados, como azoles, benzimidazoles, ditiocarbamatos, dicarboximidas, carbendazim, carboxin, propiconazol, benomyl y difenoconazol, sin embargo, solo pocos artículos de investigación han reportado el control significativo de la enfermedad en las plantas mediante el uso de estos fungicidas en condiciones de campo abierto o invernadero, además, esta práctica suele ser costosa (Bubici et al., 2019). El uso masivo de estos productos a traído consecuencias perjudiciales al ambiente, daños a la salud humana, destrucción de la biodiversidad, asimismo reduce su eficiencia generando resistencia en el organismo objetivo (Laurin et al., 2006).

Como control biológico de patógenos en plantas se utilizan bacterias y hongos, los organismos más destacables con esta capacidad son *Pseudomonas*, *Bacillus* y hongos como *Trichoderma* y *Gliocladium*. Algunos microorganismos actúan por antibiosis o competencia con el patógeno por espacio, oxígeno o nutrientes, mientras otros como los hongos hiperparásitos utilizan al patógeno a manera de alimento, *Trichoderma* dispone de ambos métodos (Vega, 2001).

La solarización como técnica de control físico de plagas es el proceso en el cual los suelos húmedos son cubiertos con plásticos de polietileno, aplicados con la finalidad de incrementar la temperatura del suelo y destruir fitopatógenos (Antoniou et al., 1995).

Dentro del control cultural se sugiere la rotación de cultivos, de modo que se enriquezca la microbiota del suelo y la afección disminuya, reposando de solanáceas por cinco años (De Corato et al., 2020).

El control de moho gris por su amplia sintomatología se basa en la utilización de productos químicos, sin embargo, el uso continuo de estos ha generado resistencia en las cepas, además de contaminar y perjudicar la salud humana. Es por ello que diferentes estudios intentan experimentar la funcionalidad de métodos alternativos que incrementen las estrategias para el control de *B. cinerea*, como aplicaciones de soluciones salinas (Youssef y Roberto, 2014), calcio (Chardonnet et al., 2000), sorbato potásico, quitosan, composta y extractos de algas para inhibir el desarrollo de patógenos y reducir los daños originados por *B. cinerea* (Calvo Garrido, 2015).

## **2.5. Bioestimulantes**

Un bioestimulante es toda sustancia orgánica, inorgánica u organismo que aplicado en plantas incrementa la eficiencia nutricional y mejora su adaptación y tolerancia a situaciones inadecuadas de estrés biótico o abiótico (Du Jardín, 2015). Los bioestimulantes son compuestos que provocan cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, estas reacciones alteran positivamente el desempeño metabólico y adaptativo de las plantas (Zhou et al., 2021).

La bioestimulación promueve el desarrollo de las plantas, lo que permite el uso eficiente de los recursos ambientales (Juárez-Maldonado et al., 2019). Son múltiples sustancias y microorganismos los que acrecientan el desarrollo de la planta a lo largo del ciclo del cultivo. Incitan los mecanismos naturales de forma que la absorción, asimilación de nutrientes, la tolerancia o recuperación a diferentes tipos de estrés y la calidad del cultivo se ven impactados de forma positiva a consecuencia de los cambios en las funciones fisiológicas de las plantas (Calvo et al., 2014).

Los bioestimulantes son una herramienta prometedora que a dosis bajas estimula a las plantas, promoviendo a la vez su supervivencia y la disminución de fertilizantes (Carletti et al., 2021). Son actualmente una técnica aplicada para la mejora visual de la calidad del fruto y calidad nutricional, además de considerarse un manejo sustentable (Rodrigues et

al., 2020) son productos potencialmente novedosos, reguladores de procesos fisiológicos (De Pascale et al., 2017). Son directamente asimilables por el vegetal, ingresan a la planta a través de la epidermis al haz vascular y se vuelven parte de las células, favoreciendo la producción de proteínas de forma que la energía adquirida es dirigida a procesos como la floración y generación de frutos (Saborío, 2002).

La bioestimulación induce en las plantas la activación de sistemas de defensa antioxidante, mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que actúan como señalizadores que protegen a la planta. Los mecanismos inducidos y la respuesta hipersensitiva desprenden un estallido oxidativo (liberación de ROS), incorporando sustancias tóxicas por transferencia de electrones que forma peróxido (ROO), radical hidroxilo (HO), óxido de nitrógeno (NO), anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) o peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Camarena-Gutiérrez, 2007).

La generación de ROS forma parte del sistema de defensa de las plantas; por lo tanto la resistencia de las plantas a tensiones bióticas depende del reconocimiento inicial del patógeno por la planta, manifestándose aquí el área de oportunidad de los bioestimulantes para mejorar la productividad y aliviar el estrés ocasionado (Calvo et al., 2014), estimulando el sistema inmune de las plantas, lo cual puede ser aprovechado como técnica de control de patógenos fundamental para el control de afecciones (Abbasi et al., 2021). La planta reacciona a la situación de estrés biótico mediante profusas respuestas de protección que impiden o previenen la fijación o expansión del patógeno mediante la liberación de sustancias tóxicas que son producidas minutos u horas después del establecimiento del patógeno (Camarena-Gutiérrez, 2007).

## **2.6. Nanotecnología**

La nanociencia y la nanotecnología hacen referencia a la comprensión y manipulación de materiales en magnitudes nanométricas, es decir, la nanociencia comprende escalas de pocos nanómetros mientras la nanotecnología intenta manipularlos (Pradeep, 2007). Es un área que indaga tecnologías a escalas muy pequeñas en formas atómicas, moleculares y macromoleculares, en dimensiones de 1-100 nanómetros (McNeil, 2005). Es interdisciplinaria, funcional en la medicina, la industria farmacéutica, textil, electrónica, tecnológica y agrícola (Ram et al., 2014), que asegura aplicaciones masivas en una amplia

escala de utilidad (Nasrollahzadeh et al., 2019). Algunas de las aplicaciones más prometedoras son la monitorización de la salud, producción agrícola, tratamiento de aguas, detección y control de plagas y remediación de la contaminación atmosférica (Maubert et al., 2009).

La nanotecnología ofrece ventajas en el sector agrícola mediante la bioestimulación, al reducir insumos, maximizar rendimientos, inocuidad y no causar disturbios en el ecosistema (Acharya y Pal, 2020). Otra aplicación importante es la remediación de suelos contaminados por medio de reacciones redox, adsorción, fotocátalisis, filtración e intercambio iónico gracias al tamaño de partícula de los nanomateriales (Usman et al., 2020).

## **2.7. Nanomateriales de carbono**

Los nanomateriales de carbono son alótropos de carbono, se presentan en forma de grafito, grafeno, diamante, nanotubos de carbono y fullereno. Los CNT presentan excelentes propiedades físicas y químicas como son su densidad, dureza, resistencia, flexibilidad, alta conductividad eléctrica y térmica. Son el resultado del enrollamiento de una lámina de átomos de carbono que son de una o múltiples capas de grafeno (Martín, 2011). Es decir en función de las capas de láminas de grafeno que posean se diferencia uno de otro, clasificándose en tipos de nanotubos, que pueden ser de pared sencilla (una sola capa) o múltiple (con varias capas concéntricas) (Aidé et al., 2017).

Los CNT se han utilizado en la agricultura, sin embargo presentan un problema de dispersión que ocasiona aglomerados que impiden su aplicación, esta poca solubilidad se ha modificado a modo que sean más dispersos en el agua, haciendo posible la manipulación (Andrade Guel et al., 2012).

Los NMC en la agricultura mejoran el rendimiento general de las plantas, por lo que se consideran un bioestimulante sin embargo, continua siendo un área de estudio poco explorada (Ioannou et al., 2020). Actualmente, se han desarrollado y aplicado para monitorear la salud de los cultivos, promover el crecimiento, mejorar la eficiencia de fertilizantes, plaguicidas, manejar y controlar plagas, enfermedades y mitigar el estrés abiótico (Verma et al., 2019). Los nanomateriales a base de carbono son considerados

biocompatibles y degradables debido a su estructura de carbono no toxica (Vera et al., 2016).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Establecimiento del experimento

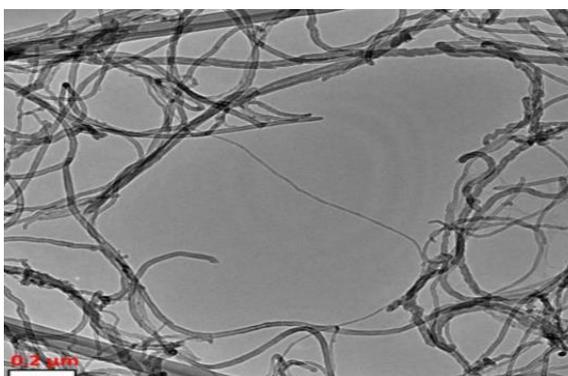
El experimento se realizó en un invernadero de patógenos de mediana tecnología tipo túnel con cubierta de polietileno, ventilación natural y orientación norte-sur, perteneciente al Departamento de Botánica, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

#### 3.2. Material vegetal

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

#### 3.3. Nanomateriales de Carbono

Se utilizaron nanotubos de carbono multicapa con un diámetro de 30 a 50 nm, una longitud de 10 a 20  $\mu\text{M}$  y una pureza de aproximadamente el 95 % (Nanostructured & Amorphous Materials, Inc., Houston, TX, EUA.) (Fig. 1).



**Figura 1.** Morfología de nanotubos de carbono utilizados

### 3.4. Desarrollo del cultivo

Las plántulas de tomate se trasplantaron 15 días después de la siembra en bolsas de poliestireno de color negro de 12 L, en una mezcla de peat moss-perlita en proporción 1:1 con base a volumen. La nutrición de las plantas se realizó mediante un sistema de riego dirigido con solución Steiner, (1961) ajustando el pH con ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado a un valor de 6.5 para favorecer la absorción de nutrientes. El cultivo se desarrolló durante 90 días manejado a un solo tallo aplicando cinco tratamientos: T0: testigo absoluto, Nanotubo de carbono CNT a una concentración de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , CNT inoculado con  $1 \times 10^8$  esporas por  $\text{mL}^{-1}$  de *B. cinerea*, Oxitetraciclina de cobre  $2 \text{ g L}^{-1}$  inoculado con  $1 \times 10^8$  esporas por  $\text{mL}^{-1}$  de *B. cinerea* como control comercial y un control positivo con  $1 \times 10^8$  esporas por  $\text{mL}^{-1}$  de *B. cinerea* con 5 repeticiones por cada tratamiento.

Las esporas de *B. cinerea* se cultivaron a  $29 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 15 días en cajas de Petri con medio papa dextrosa agar (PDA) provisto de ampicilina ( $100 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Antes de la inoculación, las esporas se resuspendieron en agua destilada estéril, para crear la suspensión de conidios de trabajo. Las plantas bajo tratamiento de *B. cinerea* se inocularon cuatro semanas después del trasplante (ddt), con una suspensión de conidios de  $1 \times 10^8$  esporas por  $\text{mL}^{-1}$ , con  $100 \text{ } \mu\text{L}$  de suspensión de conidios por planta, inyectados en los folíolos mediante una jeringa de insulina a una profundidad de 5 mm.

La primera aplicación de los tratamientos se realizó al trasplante por vía foliar y posteriormente las siguientes aplicaciones se realizaron en intervalos de una semana, para un total de cinco aplicaciones.

### 3.5. Evaluación de incidencia y severidad de *Botrytis cinerea*

La severidad en las plantas de tomate se determinó de acuerdo a la escala de Taheri y Tarighi, (2010) donde la sintomatología es:

0. Sin moho gris (0 %).
1. Síntomas de moho gris hasta el 25 % del área foliar (20 %).
2. Síntomas de moho gris del 25 al 50 % del área foliar (40 %).

3. Síntomas de moho gris del 50 al 75 % del área foliar (60 %).
4. Síntomas de moho gris en más del 75 % del área foliar (80 %).
5. Planta muerta (100 %).

### **3.6. Variables agronómicas**

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.

A los 70 días (ddt) se tomaron muestras al azar de la cuarta hoja completamente expandida, se colocaron inmediatamente en hielo (4 °C) y se conservaron a -20 °C en ultra congelador para detener la actividad enzimática.

### **3.7. Pigmentos fotosintéticos**

Este parámetro se determinó de acuerdo al método de Nagata y Yamashita, (1992) con algunas modificaciones. Para realizar la extracción se pesaron 10 mg de tejido liofilizado y se colocaron en un microtubo de 2 mL, se añadieron 2 mL de hexano:acetona (3:2). El extracto obtenido se centrifugó a 12 000 RPM durante 10 minutos a 4 °C en una microcentrífuga (OHAUS Frontier Modelo FC5515 R). Se recolectó el sobrenadante, con este extracto se determinaron clorofilas a absorbancias de 453 nm, 472 nm, 505 nm, 645 nm y 663 nm. El contenido de clorofila *a* y clorofila *b* se determinó mediante espectrofotometría (UNICO Spectrophotometer Modelo UV2150) usando la absorbancia (A) leída a 663 nm y 645 nm en las ecuaciones 1 y 2. La clorofila total se obtiene con la ecuación 3. Los carotenoides se obtienen con la ecuación 4. El blanco fue hexano:acetona (3:2). Los resultados se expresaron en mg 100 g<sup>-1</sup> de peso seco.

$$\text{Clorofila a} = 25.38 * A_{663} + 3.6A_{645} \quad (1)$$

$$\text{Clorofila b} = 30.38 * A_{645} - 6.5 * A_{663} \quad (2)$$

$$\text{Clorofila total} = 18.8 * A_{663} + 34.02 * A_{645} \quad (3)$$

$$\beta - \text{caroteno} = 0.216 * A_{663} - 1.22 * A_{645} - 0.304 * A_{505} + 0.452 * A_{453} \quad (4)$$

### **3.8. Peróxido de hidrógeno**

Se determinó de acuerdo al método de Velikova et al., (2000). 10 mg de muestra liofilizada se homogeneizaron con 1000  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (0.1 %) frío. El homogeneizado se centrifugó a 12 000 RPM durante 15 minutos, se tomaron 250  $\mu\text{L}$  del supernadante y se añadió 750  $\mu\text{L}$  de buffer de fosfato de potasio 10 mm (pH 7.0) y 1000  $\mu\text{L}$  de yoduro de potasio (1 mL). La absorbancia se leyó a 390 nm. El contenido de  $\text{H}_2\text{O}_2$  se determinó utilizando un estándar de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

### **3.9. Fenoles totales**

Se determinó mediante el método del reactivo Folin-Ciocalteu descrito por Yu y Dahlgren, (2000) con algunas modificaciones. Brevemente se pesaron 50 mg de muestra liofilizada la cual se extrajo con 1000  $\mu\text{L}$  de solución agua: acetona (1:1). La mezcla se homogeneizó en vórtex durante 30 segundos, se sónico por 5 minutos para finalmente centrifugar en una centrífuga (OHAUS Frontier Modelo FC5515 R) a 12 500 RPM durante 10 minutos a 4 °C.

Para la cuantificación se tomó una alícuota de 18  $\mu\text{L}$ , se añadió 70  $\mu\text{L}$  de reactivo Folin-Ciocalteu, 175  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20 % y 1740  $\mu\text{L}$  de agua destilada fría, 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. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso seco (mg de EAG 100  $\text{g}^{-1}$  PS).

### **3.10. Flavonoides**

Se llevó a cabo utilizando el método de Dowd adaptado por Arvouet-Grand et al., (1994) a 20 mg de tejido liofilizado se agregaron 2 mL de metanol de grado reactivo, se homogeneizó en vórtex durante 30 segundos. La mezcla se filtró usando papel Whatman No. 1.

Para la cuantificación, se tomó una alícuota de 1 mL del extracto, se agregaron 2 mL de solución metanólica de tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) al 2 % en un microtubo y se dejó reposar durante 20 minutos en la oscuridad. Transcurrido el tiempo se tomó la lectura en un espectrofotómetro UV-Vis (UNICO Spectrophotometer Modelo UV2150). A una longitud de onda de 415 nm utilizando una celdilla de cuarzo. El contenido de flavonoides se expresó en miligramos equivalentes de quercetina por 100 g de peso seco (mg EQ 100 g<sup>-1</sup> PS).

### **3.11. Vitamina C**

El contenido de ácido ascórbico o vitamina C se determinó por el método de Hung y Yen, (2002) 10 mg de tejido liofilizado se colocaron en un microtubo y se agregó 1 mL de ácido metafosfórico al 1 % y se filtró con papel Whatman N° 1. Posteriormente se recolectó 0.2 mL de la extracción y se agregó 1.8 mL de 2-6 diclorofenolindofenol (50  $\mu\text{M}$ ) y se dejó a temperatura ambiente por 15 segundos. 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. Los valores se obtuvieron a partir de la curva de calibración preparada con ácido ascórbico (0-50 mg L<sup>-1</sup>). Los resultados se expresaron en mg g<sup>-1</sup> de peso seco de ácido ascórbico.

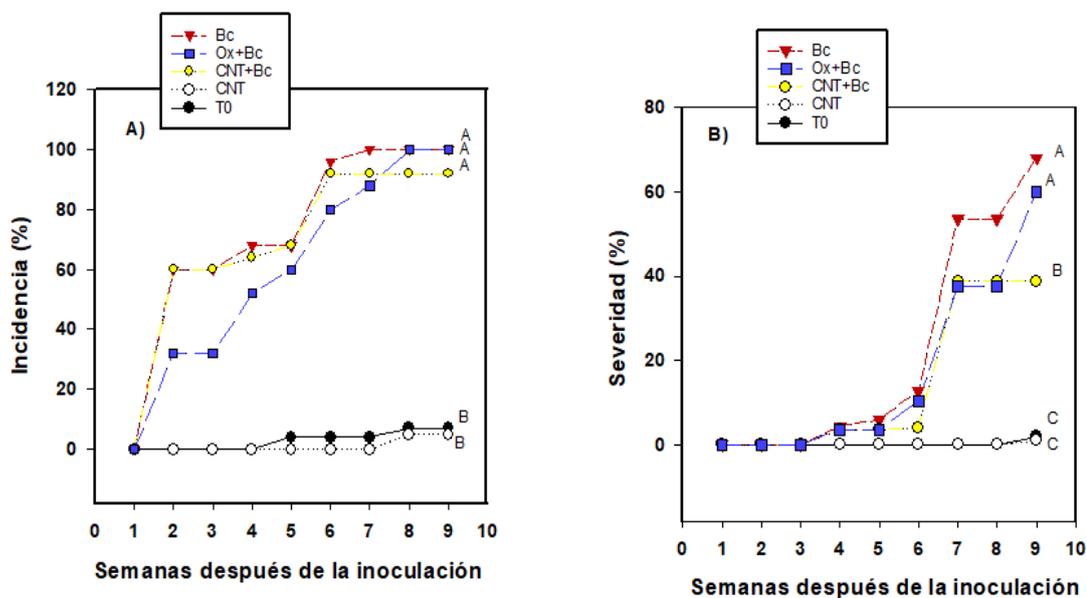
### **3.12. Análisis estadístico**

Para la evaluación de las variables agronómicas se consideraron cinco repeticiones por tratamiento usando un diseño en cuadro latino (5x5) y para las variables bioquímicas cinco repeticiones por tratamiento, utilizando un diseño completamente al azar. El análisis de varianza y prueba de medias de Fisher LSD ( $p \leq 0.05$ ) se realizaron en el software InfoStat versión 2018. Además, se realizó un análisis multivariado de varianza (MANOVA) y la prueba de Hotelling ( $p \leq 0.05$ ) sobre la incidencia y severidad de *Botrytis cinerea*.

#### 4. RESULTADOS

La incidencia y severidad de *B. cinerea* en plantas de tomate se modificaron con la aplicación de los tratamientos (Figura 2). El menor porcentaje de incidencia en plantas inoculadas se observó en el tratamiento CNT+Bc con un 90 %, los tratamientos Ox+Bc y Bc tuvieron una incidencia del 100 %. T0 y CNT a pesar de que no fueron inoculados, tuvieron incidencia del 7 y 5 % respectivamente (Fig. 2 A).

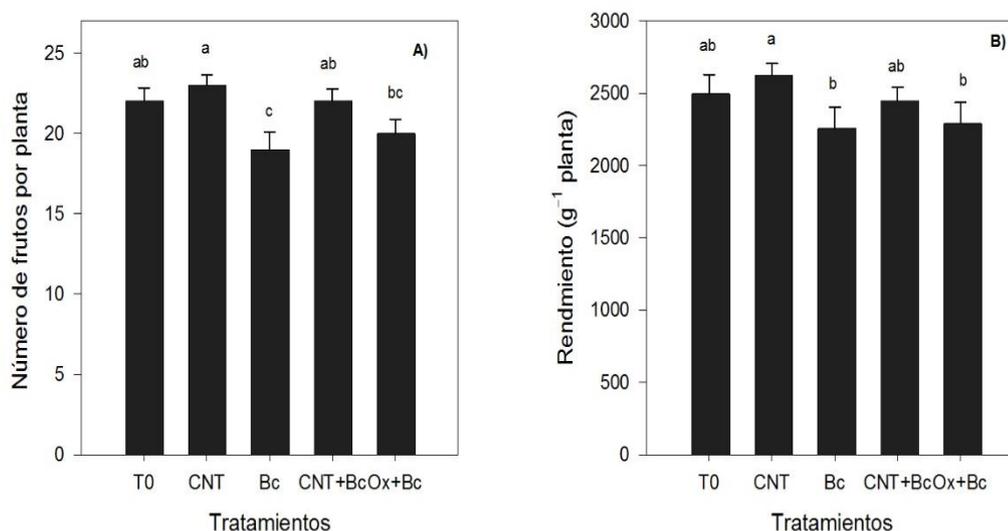
La severidad de *B. cinerea* disminuyó con la aplicación de CNT, ya que cuando se aplicaron los nanomateriales de carbono en plantas inoculadas con el patógeno en CNT+Bc hubo una reducción de hasta un 43 % respecto al control positivo Bc. El tratamiento Ox+Bc presentó una reducción del 11 % en la severidad del patógeno en comparación con el control positivo. Al igual que en la incidencia, los tratamientos no inoculados mostraron una severidad del 3 y 2 % con respecto al control positivo (Fig. 2 B).



**Figura 2. Incidencia (A) y severidad (B) de *Botrytis cinerea* en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Letras diferentes entre tratamientos indican diferencias significativas según la prueba de Hotelling ( $p \leq 0.05$ ).

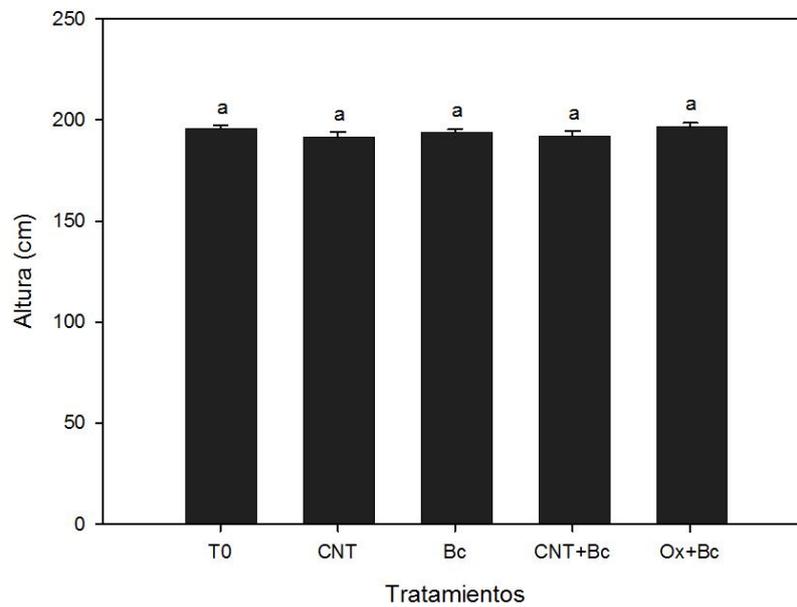
Los resultados mostraron que las aplicaciones de nanotubos de carbono incrementaron el número de frutos por planta (Fig. 3 A). CNT fue el tratamiento que presentó el mayor número de frutos con 13.04 %, 17.39 y 4.34 % más respecto a Ox+Bc, Bc, CNT+Bc y T0. Los tratamientos T0 y CNT+Bc no mostraron diferencias significativas, en cuanto a Ox+Bc redujo el número de frutos un 10 % respecto a CNT+Bc.

El rendimiento presentó incrementos en el tratamiento CNT, aumentando 4.93 %, 6.73 %, 12.73 % y 14.03 % con respecto a T0, CNT+Bc, Ox+Bc y Bc, sin embargo, CNT+Bc se mostró estadísticamente igual al testigo absoluto, superando al control químico con el 6.42 %. (Fig. 3 B).



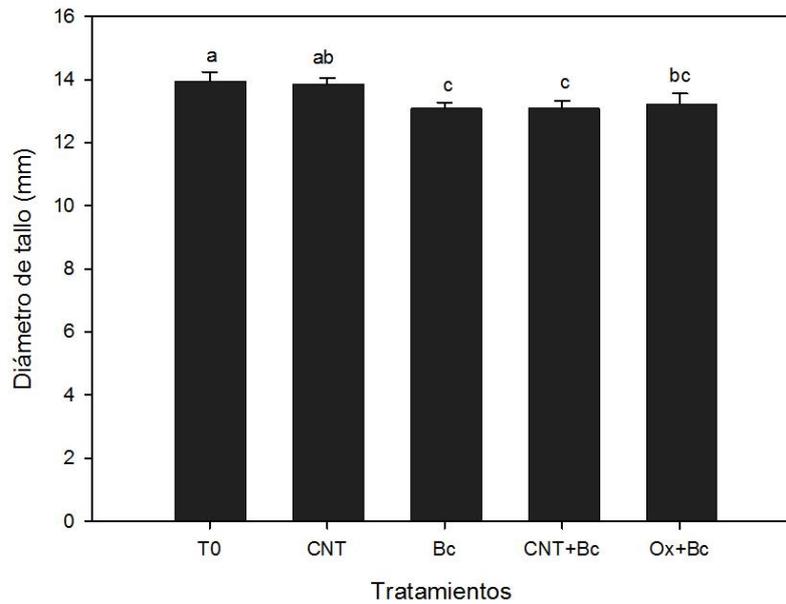
**Figura 3. Número de frutos por planta (A) y rendimiento (B) en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

La aplicación de nanomateriales de carbono no modificó la altura de las plantas de tomate ya que los tratamientos no presentaron diferencias significativas (Fig. 4).



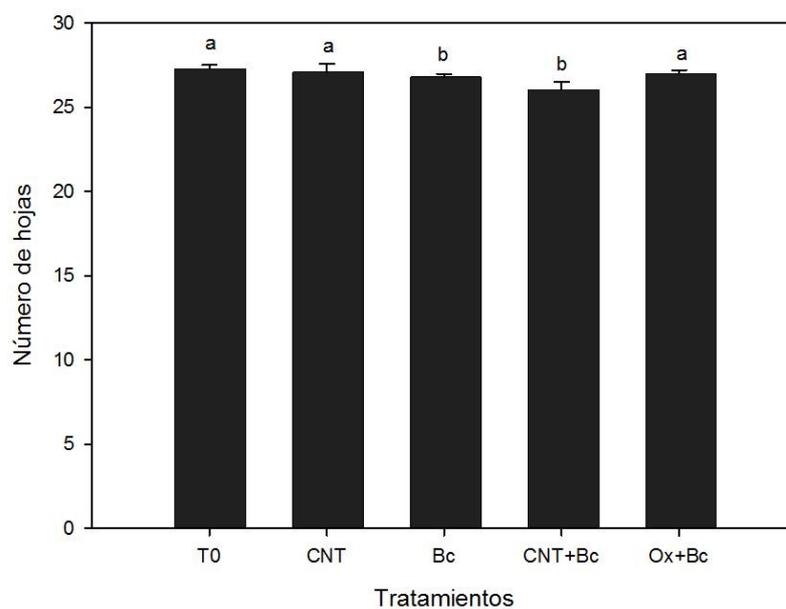
**Figura 4. Altura de plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina  $2 \text{ g L}^{-1}$ ) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

Se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos en el diámetro de tallo (Fig. 5). Cuando las plantas no fueron inoculadas con *B. cinerea* hubo un incremento en esta variable con respecto a las plantas inoculadas, ya que los tratamientos Ox+Bc disminuyó el diámetro de tallo 5.51 % y 6.64 % en el control positivo y CNT+Bc con respecto a T0, además el control químico redujo 4.83 % y 5.95 % en Bc y CNT+Bc respecto a CNT.



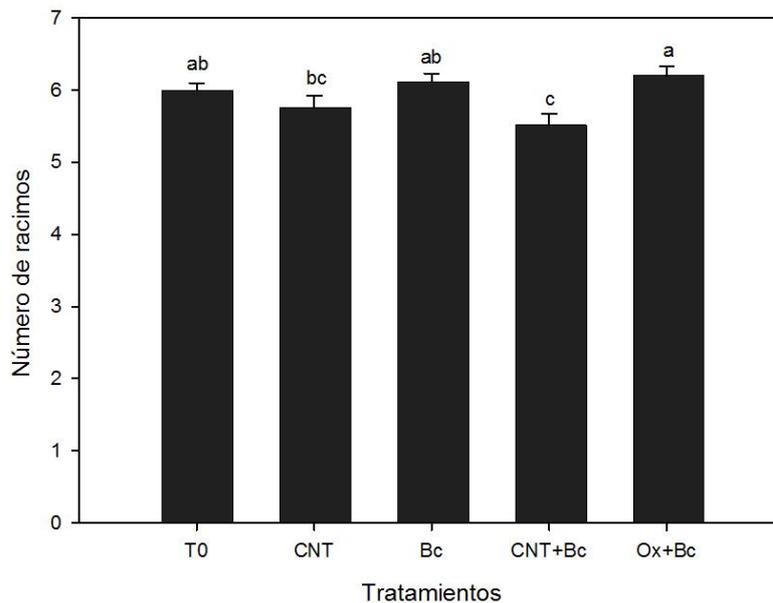
**Figura 5. Diámetro de tallo en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

En el número de hojas se modificó estadísticamente con la aplicación de los tratamientos (Fig. 6). El mayor incremento se documentó bajo los tratamientos T0, CNT y Ox+Bc. Cuando las plantas fueron inoculadas con el patógeno, la aplicación de Oxitetraciclina incrementó el número de hojas 3.55 % y 0.74 % respecto a CNT+Bc y Bc.



**Figura 6. Número de hojas en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

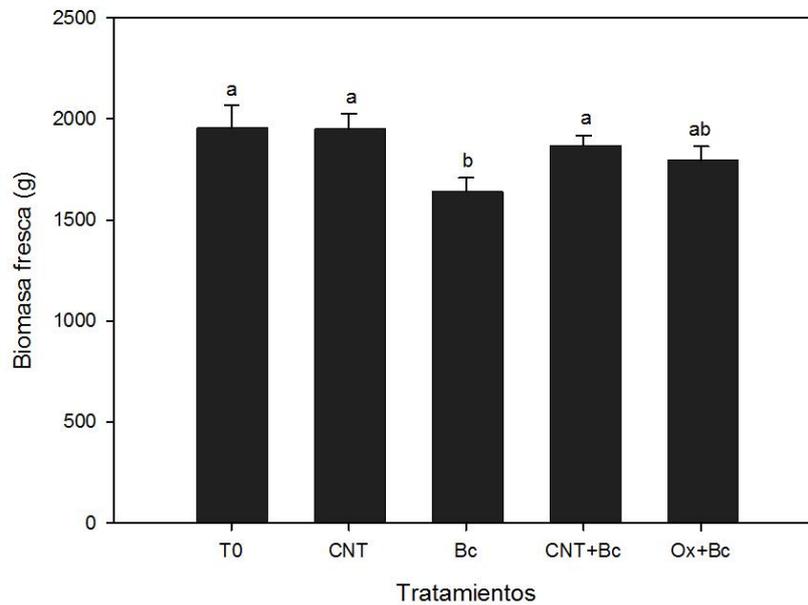
La aplicación de NMC mostró diferencias significativas entre tratamientos en el número de racimos por planta (Fig. 7). Ox+Bc fue el tratamiento con el mayor número de racimos por plantas, seguidos del control positivo Bc. Ambos se comportaron estadísticamente iguales al T0. Cuando las plantas no fueron sometidas a estrés, la aplicación de CNT mostró una disminución en del número de racimos de 6.25 % con respecto de Bc



**Figura 7. Número de racimos en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

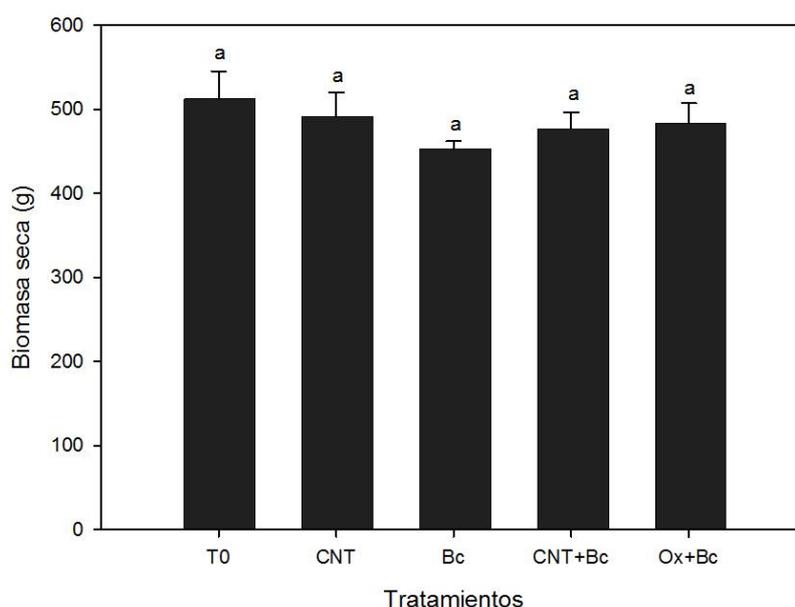
La biomasa fresca de las plantas mostró diferencias significativas entre tratamientos (Fig. 8). El mayor contenido de biomasa se observó en las plantas que no fueron inoculadas con el patógeno, sin embargo, se destaca que la aplicación de CNT en plantas inoculadas con *B. cinerea* se comportó estadísticamente igual a los tratamientos que no fueron

inoculados, además fue estadísticamente superior al control químico y al control positivo incrementando la biomasa 3.90 % y 12.19 %.



**Figura 8. Biomasa fresca en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

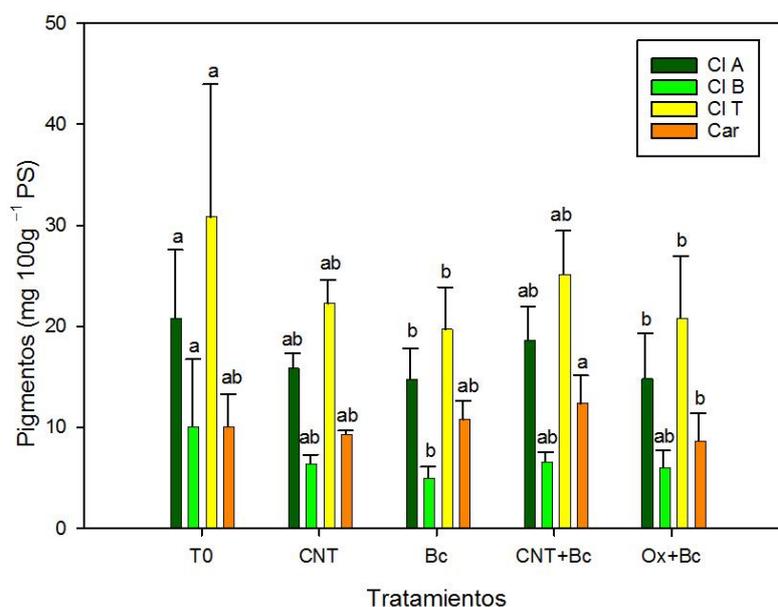
La variable biomasa seca no reveló diferencias estadísticas entre tratamientos (Fig. 9). Sin embargo, se observó una tendencia a la disminución de esta variable en las plantas correspondientes al control positivo Bc.



**Figura 9. Biomasa seca en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

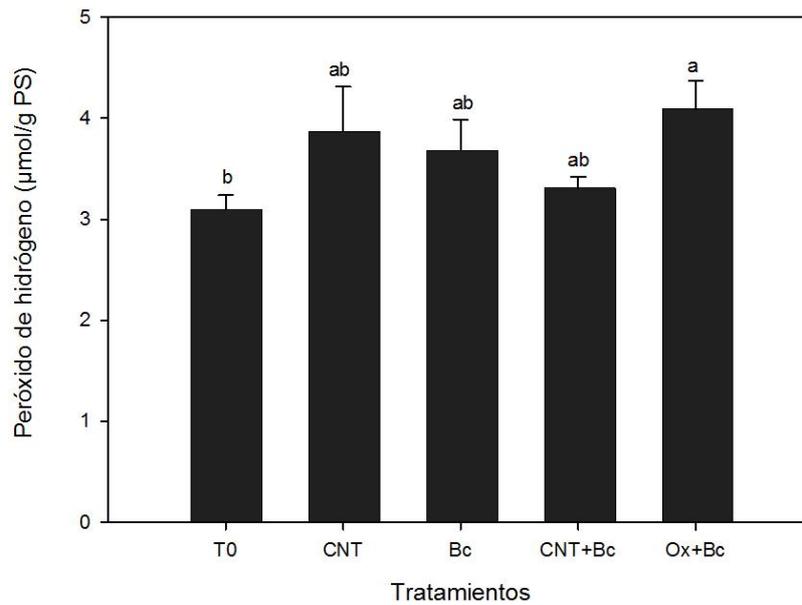
Se observaron diferencias entre tratamientos en el contenido de pigmentos en plantas de tomate (Fig. 10). La clorofila a, fue estadísticamente superior en los tratamientos T0, CNT y CNT+Bc, incrementando 29.08 %, 28.65 % y 6.88 % respecto a Bc; 6.31 % 20.74 % y 20.25 %, con respecto a Ox+ Bc. En el contenido de clorofila b se observó la misma tendencia que en el contenido de clorofila a, ya que los tratamientos T0, CNT y CNT+Bc fueron estadísticamente superiores con 50.39 % 40.33 % y 22.42 % respecto a Bc; 6.69 % 23.96 % y 8.54 % respecto a Ox+Bc. La suma de ambas clorofilas (clorofilas totales) también se incrementó en los tratamientos T0, CNT y CNT+Bc, 36.05 %, 11.41 % y 21.62 % en comparación con Bc; 32.49 %, 6.46 % y 17.24 % con respecto a Ox+Bc.

La aplicación de CNT en plantas enfermas fue el tratamiento que mas incrementó el contenido de carotenoides con 30.01 % respecto a Ox+Bc. El control químico se mostró estadísticamente igual a los tratamientos no inoculados y a Bc.



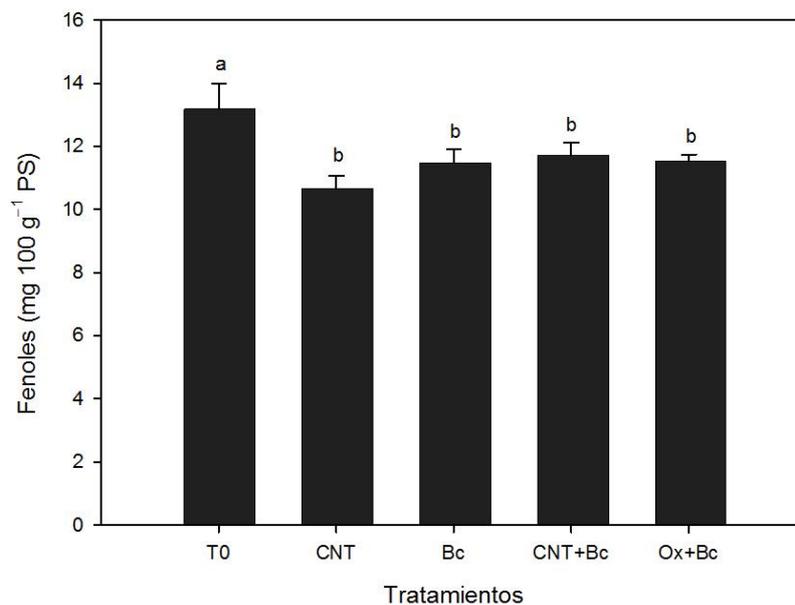
**Figura 10. Contenido de pigmentos en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

El contenido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en plantas de tomate se modificó con la aplicación de los tratamientos (Fig. 11). El mayor contenido de este compuesto se observó cuando se aplicó Oxitetraciclina en plantas inoculadas con *B. cinerea*, ya que se incrementó 10.02 % y 19.07 % con respecto de Bc y CNT+Bc. Cuando se aplicó nanomateriales de carbono en plantas enfermas el contenido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue estadísticamente igual a las plantas que no fueron inoculadas.



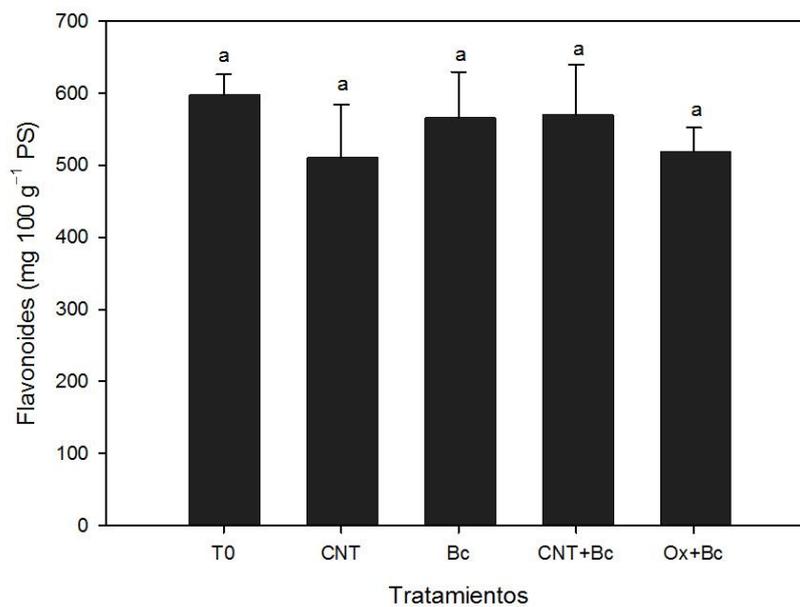
**Figura 11. Contenido de peróxido de hidrógeno en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

En los compuestos fenólicos se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos (Fig. 12). Destacando el testigo absoluto sobre los otros tratamientos con el mayor contenido de estos compuestos. CNT+Bc redujo 12.54 % respecto al T0, pero obtuvo el 1.45 % de incremento en cuanto a Ox+Bc.



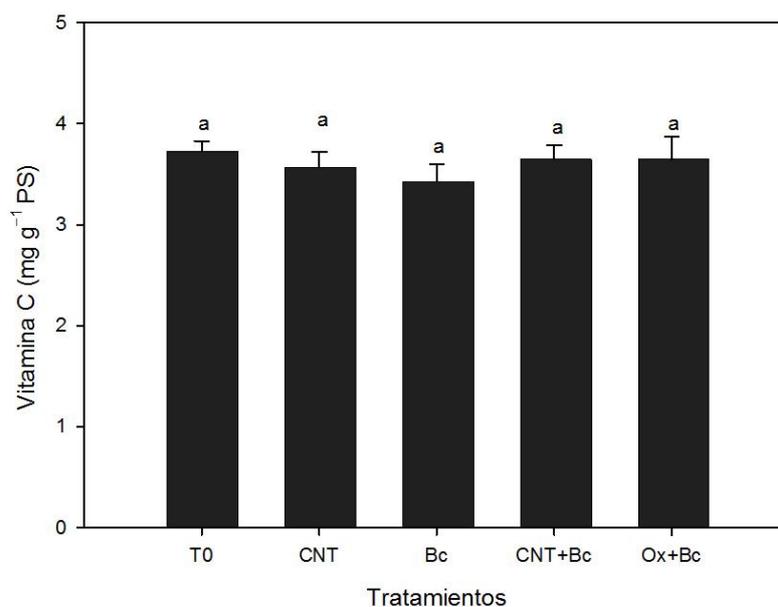
**Figura 12. Contenido de fenoles en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

El contenido de flavonoides en las plantas no mostró diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo, los tratamientos con el menor contenido de estos metabolitos fueron CNT y Ox+Bc. (Fig. 13).



**Figura 13. Contenido de flavonoides en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

El contenido de vitamina C no se modificó con la aplicación de los tratamientos, sin embargo, el control positivo Bc fue el que evidenció el menor contenido de este compuesto. (Fig. 14)



**Figura 14. Contenido de vitamina C en plantas de tomate.** T0: Testigo absoluto; CNT: Nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*; CNT+Bc: plantas inoculadas con *Botrytis cinerea* tratadas con nanotubos de carbono (100 mg L<sup>-1</sup>); Ox+Bc: Control comercial (Oxitetraciclina 2 g L<sup>-1</sup>) en plantas inoculadas con *Botrytis cinerea*. Medias con letra común no son significativamente diferentes según LSD Fisher. ( $p \leq 0.05$ ).

## 5. DISCUSIÓN

*B. cinerea* agente causal del moho gris, es un patógeno con gran importancia agronómica, responsable de la descomposición de frutas y hortalizas en un amplio número de huéspedes que ocasiona pérdidas significativas (Romanazzi y Feliziani, 2014). Por su parte, los nanomateriales de carbono pueden impactar de manera positiva en las plantas y utilizarse como herramienta para el control de patógenos ya que poseen la capacidad de inhibición de microorganismos al generar daños físicos a consecuencia de la relación superficie/volumen de los NMC, que provoca un vínculo con la pared celular y la membrana de los microorganismos, ocasionando lesiones en estas (Khan et al., 2016), causando deshidratación y muerte de las mismas (Maksimova, 2019). De igual manera los NMC causan daños químicos debido a que la interacción CNT y patógeno genera ROS potencialmente tóxicas para los microorganismos (Azizi-Lalabadi et al., 2020).

Algunas investigaciones concuerdan con la presente, demostrando que los CNT inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos de plantas, Siddiqui et al., (2019) adicionaron en medio de cultivo Murashige y Skoog  $0.10 \text{ mg mL}^{-1}$  de óxido de grafeno y reportaron la inhibición de los patógenos fúngicos *Alternaria dauci* y *Fusarium solani* de forma *in vitro*. Hao et al., (2019) aplicaron de forma foliar  $200 \text{ mg L}^{-1}$  de nanotubos de carbono en plantas de rosa (*Rosa rugosa* Thunb.) infestadas con *Podosphaera pannosa* y reportaron una disminución del desarrollo y la severidad del patógeno sobre las plantas.

En la presente investigación se observó una disminución del diámetro de tallo, biomasa fresca y seca en las plantas de tomate cuando estas fueron inoculadas con el patógeno. Se ha demostrado que *B. cinerea* se desarrolla en cualquier parte de la planta (lesiona hojas, tallos, flores y frutos) al colonizar induce marchitez o incluso la muerte (Koike y Bolda, 2016), al invadir los tejidos meristemáticos degrada las paredes celulares de los tejidos dérmicos, extinguiendo las células vegetales, nutriéndose de su contenido, ocasionando pérdida de agua y nutrientes, disminuyendo el rendimiento, el desarrollo de los tallos o cualquier otra parte vegetal (Reyes, 2017).

Merchán-Gaitán et al., (2019) informaron la disminución del rendimiento y la calidad del cultivo de fresa (*Fragaria* sp), además de pérdidas florales a consecuencia de la pudrición que ocasiona *B. cinerea*. Bombelli y Wrright, (2006) reportan pérdidas en firmeza además de deterioro en apariencia por presencia de podredumbre acuosa y blanda en frutos de tomate infectados por *B. cinerea*.

González-García et al., (2019) obtuvieron aumentos en biomasa aérea mediante aplicaciones foliares a diferentes dosis de CNT y grafeno (10, 50, 100, 250, 500 y 1000 mg L<sup>-1</sup>) en plantas de tomate, así como incrementos en compuestos antioxidantes como fenoles, flavonoides y vitamina C, este compuesto protege de diferentes tipos de estrés y está involucrado con el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas. Tripathi et al., (2011) reportan en *Cicer arietinum* L. (garbanzo), aumentos en la longitud del brote mediante la aplicación de CNT a 100 mg L<sup>-1</sup> en las semillas, se le adjudica esta reacción a la función bioestimulante que promueven los nanotubos de carbono. Asimismo Namesny, (2022) reportó mejorías en crecimiento de brote, tallo e incrementos en la biomasa en plantas de tomate por aplicaciones de óxido de grafeno a concentraciones de 50 mg L<sup>-1</sup>, mientras que Zhang et al., (2021) demostraron que la aplicación de grafeno a dosis de 50 mg L<sup>-1</sup> impactó positivamente la capacidad fotosintética aumentando el rendimiento y aspectos morfológicos como hojas y raíces en plantas de sábila (*Aloe vera* L.), esto por su capacidad como fertilizante, que mejora la eficiencia de nutrientes mediante liberaciones lentas, proporcionando un suministro constante de grafeno.

Por otra parte los nanotubos de carbono aumentan la composición lipídica, rigidez y permeabilidad de las membranas plasmáticas de la raíz, fomentando la absorción de agua, nutrientes y CO<sub>2</sub> en las plantas, lo que resulta en mayor crecimiento y desarrollo vegetal (Martínez-Ballesta et al., 2016).

Otros efectos de gran importancia con la aplicación de CNT son el aumento de la productividad agrícola (Patel et al., 2018), McGehee et al., (2017) reportaron acrecentamiento en el número de frutos luego de la aplicación de 50 mg L<sup>-1</sup> de CNT, agregados al sistema hidropónico, esto se debe a que una vez dentro de las células vegetales, los NMC interactúan con los diversos orgánulos celulares que pueden modificar los procesos metabólicos y afectar los procesos bioquímicos en la célula (Younes et al., 2019), los NMC son absorbidos por la planta a través de la raíz o de las

hojas y funcionan como fuente de carbono, mejorando de este modo el crecimiento y desarrollo de la planta lo que resulta en el incremento de biomasa y rendimiento del cultivo a consecuencia de la pulverización del grafeno (Majeed et al., 2020).

Las variables agronómicas evaluadas en la presente investigación corroboran la funcionalidad de CNT, destacando este tratamiento sobre el producto comercial e incluso resulta estadísticamente igual o mayor que el tratamiento de control en algunas de las variables evaluadas, pudiendo ser una excelente opción de uso en cultivos agrícola. Los NMC se consideran favorables en la productividad y tolerancia de las plantas, ya que impulsan el desarrollo morfológico, biomasa de hojas, tallos, raíces y frutos, además de aminorar la incidencia y severidad de *Botrytis cinerea* en el cultivo de tomate. También los nanomateriales de carbono funcionan como bioestimulante al promover el crecimiento y funcionamiento de las plantas ante condiciones de estrés, modificando el sistema de defensa antioxidante y mejorando la respuesta de las plantas ante el daño generado por microorganismos patógenos (Méndez-López et al., 2022).

Los resultados demuestran que los nanomateriales inducen la generación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por si solos y en las plantas sometidas a estrés por el patógeno, esto como método de señalización que activa el sistema de defensa de la planta al estrés biótico, sin embargo, se demostró que fue menor el contenido de este compuesto en las plantas inoculadas tratadas con CNT que con la aplicación del fungicida químico. Wang et al., (2012) reportaron incrementos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en semillas de maíz (*Zea mays* L.) expuestas a la técnica de imbibición a una concentración de 100 mg L<sup>-1</sup> de nanopartículas de óxido de cobre (CuO), otra investigación mostró producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) tratadas con NPs de óxido de zinc (ZnO) a una concentración de 50 mg L<sup>-1</sup> (Méndez-Argüello et al., 2016).

En las planta la producción de ROS, como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inducen a la síntesis de metabolitos secundarios, con alto potencial antioxidante como los compuestos fenólicos (Jordan et al., 2018), estos compuestos químicos regulan la actividad metabólica y tienen una función directa en el crecimiento de la planta, actúan como repelentes a depredadores y patógenos y presentan efectividad de protección ante la radiación ultravioleta (Pérez-Pérez et al., 2014), los flavonoides al igual que los fenoles son compuestos con naturaleza fitoquímica que protege a las células de factores estresantes, quela metales y actúa como

antioxidante, es decir neutraliza radicales libres tóxicos u oxidantes que causan enfermedades o muerte celular (Martínez-Flórez et al., 2002), los flavonoides son compuesto que se encuentran en las áreas más expuestas al sol como: hojas, flores y frutos, además atrae insectos para el proceso de polinización y posee función antienvjecimiento (Luengo, 2016).

Por su parte ácido ascórbico es un antioxidante que degrada las ROS, reduciendo estrés oxidativo biótico y/o abiótico (Mora-Herrera et al., 2011). Galindo-Guzmán et al., (2022) reportaron en su investigación de germinación, incrementos de antioxidantes y metabolitos secundarios, produciendo mayor cantidad de compuestos fenólicos en plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) con la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc humedeciendo las semillas a una dosis de 50 mg L<sup>-1</sup> NPs-ZnO. Rivera-Gutiérrez et al., (2021) presentaron aumentos del 20 % en compuestos antioxidantes (fenoles, flavonoides y ácido ascórbico) en frutos de melón (*Cucumis melo* L.), sometidos a aspersiones foliares con 50 mg L<sup>-1</sup> de NPs ZnO.

CNT aumentan los metabolitos secundarios como fenoles y flavonoides, los cuales se distinguen por su función antimicrobiana, obstaculizando la división celular e inactivando la síntesis de aminoácidos indispensables para el patógeno (Arruda et al., 2021). Es decir, CNT puede reducir considerablemente los daños ocasionados en las plantas por Bc, al inducir resistencia al patógeno inhibiendo su replicación. El uso de CNT resulta novedoso y viable para el control de enfermedades en la agricultura al reducir los impactos negativos (González-García et al., 2022).

## 6. CONCLUSIÓN

La aplicación de nanomateriales de carbono redujo significativamente la incidencia y severidad de *Botrytis cinerea* en plantas de tomate, adicionalmente los tratamientos en los que se hizo uso de los nanotubos de carbón incrementaron el rendimiento e impactaron positivamente el desarrollo de las plantas.

Los nanomateriales de carbono modifican el sistema de defensa de las plantas induciendo tolerancia a diferentes tipos de estrés, los CNT son una alternativa para incrementar la productividad, calidad de frutos y órganos.

El campo de acción de los NMC resulta prometedor en la agricultura, mostrándose como una opción viable, productiva y biocompatible, con una estructura a base de carbono que no genera toxicidad en la planta.

## 7. LITERATURA CITADA

- Abbasi, S., Sadeghi, A., Omidvari, M., Tahan, V., 2021. The stimulators and responsive genes to induce systemic resistance against pathogens: an exclusive focus on tomato as a model plant. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 33, 101993.
- Abobatta, W.F., 2019. Drought adaptive mechanisms of plants—a review. *Advances in agriculture and environmental science*, 2(1), 62-65.
- Acharya, A., Pal, P.K., 2020. Agriculture nanotechnology: translating research outcome to field applications by influencing environmental sustainability. *NanoImpact* 19.
- Galindo, A. S., Lucio, D. A. R., Mendoza, L. A. R., López, L. Y. L., Avilés, M. J. G. F., González, S. C. E., ... & académico en Ciencia, C. (2017). Aplicaciones de nanotubos de carbono.
- Andrade Guel, M.L., López López, L.I., Sáenz Galindo, A., 2012. Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(3), 9-18.
- Antoniou, P.P., Tjamos, E.C., Andreou, M.T., Panagopoulos, C.G., 1995. Effectiveness, modes of action and commercial application of soil solarization for control of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* of tomatoes. In IV International symposium on soil and substrate infestation and disinfestation 382 (pp. 119-128).
- Arruda, T.R., Pinheiro, P.F., Silva, P.I., Bernardes, P.C., 2021. A new perspective of a well-recognized raw material: phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities and  $\alpha$ - and  $\beta$ -acids profile of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) *Elsiever* 141, 110905.
- Arvouet-Grand, A., Vennat, B., Pourrat, A., & Legret, P. (1994). Standardization of propolis extract and identification of principal constituents. *Journal de pharmacie de Belgique*, 49(6), 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. *Advances in colloid and interface science*, 284, 102250.

- Balloux, F., van Dorp, L., 2017. Q&A: what are pathogens, and what have they done to and for us? *BMC Biol.* 15, 4–9
- Benito, E.P., Arranz, M., Eslava, A.P., 2000. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Revista iberoamericana de micología*, 17, S43-S46.
- Bernal, R., 2009. *Botrytis cinerea* moho gris : importante patógeno en diferentes cultivos bajo protección. *Revista INIA-Nº*, 41–43.
- Blancard, D., 2012. The tomato plant and its culture. *Tomato Diseases*. 17–34.
- Bombelli, E. C., & Wright, E. R. (2006). Tomato fruit quality conservation during post-harvest by application of potassium bicarbonate and its effect on *Botrytis cinerea*. *Ciencia Inv. Agraria*, 33, 167-172.
- 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.
- Calvo Garrido, C., 2015. La podredumbre gris (*Botrytis cinerea*): influencia en el vino y avances en las estrategias para su control. *Phytoma España: la revista profesional de sanidad vegetal*,(274), 17.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W., 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and soil*, 383, 3-41.
- Camarena-Gutiérrez, G., 2007. Las especies reactivas de oxígeno en defensa de las plantas contra patógenos. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 12(1), 25-30.
- Carletti, P., García, A.C., Silva, C.A., Merchant, A., 2021. Towards a functional characterization of plant biostimulants. *Frontiers in plant science*, 12, 677772.
- Chardonnet, C.O., Sams, C.E., Trigiano, R.N., Conway, W.S., 2000. Variability of three isolates of *Botrytis cinerea* affects the inhibitory effects of calcium on this fungus. *Phytopathology* 90, 769–774.
- Cheung, N., Tian, L., Liu, X., Li, X., 2020. The destructive fungal pathogen *Botrytis cinerea*—insights from genes studied with mutant analysis. *Pathogens* 9, 1–46.
- De Corato, U., Patruno, L., Avella, N., Salimbeni, R., Lacolla, G., Cucci, G., Crecchio, C., 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. *Applied soil ecology*, 154, 103601.
- De Pascale, S., Tuzel, Y., Jardin, P. Du, Yakhin, O.I., Lubyaynov, A.A., Yakhin, I.A., Brown, P.H., 2017. Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers*

- in plant science, 7, 2049.
- Du Jardin, P., 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticulturae*, 196, 3-14.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2013. El cultivo de tomate con buenas prácticas agrícolas en la agricultura urbana y periurbana agricultura para el desarrollo.
- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura, F.I. en R. con la A., 2017. Tomate rojo 2017. *Panor. Agroaliment. tomate rojo* 2019 2, 3.
- Galindo-Guzmán, A.P., Fortis-Hernández, M., De La Rosa-Reta, C.V., Zermeño-González, H., Galindo-Guzmán, M., 2022. Síntesis química de nanopartículas de óxido de zinc y su evaluación en plántulas de *Lactuca sativa*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(SPE28), 299-308.
- Gatahi, D.M., 2020. Challenges and opportunities in tomato production chain and sustainable standards. *International journal of horticultural science and technology*, 7(3), 235-262
- Gepp, V., 2000. Control químico de enfermedades de cultivos. Curso UEPP. Facultad de agronomía. Montevideo. Uruguay. Apuntes.
- Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., Kononowicz, A.K., 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120, 881-902.
- González-García, Y., Cadenas-Pliego, G., Alpuche-Solís, Á.G., Cabrera, R.I., Juárez-Maldonado, A., 2022. Effect of carbon-based nanomaterials on *Fusarium* wilt in tomato. *Scientia Horticulturae*, 291, 110586.
- 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. *International journal of molecular sciences*, 20(23), 5858
- Griffin, K., Gambley, C., Brown, P., Li, Y., 2017. Copper-tolerance in *Pseudomonas syringae* pv. tomato and *Xanthomonas* spp. and the control of diseases associated with these pathogens in tomato and pepper. A systematic literature review. *Crop Protection*, 96, 144-150.
- Hao, Y., Fang, P., Ma, C., White, J.C., Xiang, Z., Wang, H., Zhang, Z., Rui, Y., Xing, B., 2019. Engineered nanomaterials inhibit *Podospaera pannosa* infection on rose leaves by regulating phytohormones. *Environmental research*, 170, 1-6.

- 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.
- Ioannou, A., Gohari, G., Papaphilippou, P., Panahirad, S., Akbari, A., Dadpour, M.R., Krasia-Christoforou, T., Fotopoulos, V., 2020. Advanced nanomaterials in agriculture under a changing climate: the way to the future? *Environmental and experimental botany*, 176, 104048.
- 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 & health*, 6, 29-35.
- 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. *International journal of molecular sciences*, 20(1), 162.
- Juárez-Maldonado, A., Tortella, G., Rubilar, O., Fincheira, P., Benavides-Mendoza, A., 2021. Biostimulation and toxicity: the magnitude of the impact of nanomaterials in microorganisms and plants. *Journal of advanced research*, 31, 113-126.
- Khan, A.A.P., Khan, A., Rahman, M.M., Asiri, A.M., Oves, M., 2016. Lead sensors development and antimicrobial activities based on graphene oxide/carbon nanotube/poly(O-toluidine) nanocomposite. *International journal of biological macromolecules*, 89, 198-205.
- Knapp, S., Bohs, L., Nee, M., Spooner, D.M., 2004. Solanaceae - A model for linking genomics with biodiversity. *Comp. Funct. Genomics* 5, 285–291.
- Koike, T., Bolda, M., 2016. El moho gris o pudrición de fresa. United States: California strawberry comission.
- Laurin, M., Llosá, M.J., González, V., Porcuna, J.L., Servicio de Sanidad Vegetal, 2006. El papel de la agricultura ecológica en la disminución del uso de fertilizantes y productos fitosanitarios químicos. Congreso SEAE Zaragoza 1–5.
- Luengo, M.T.L., 2016. Flavonoides. *Offarm: farmacia y sociedad*, 21(4), 108-113.
- 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.
- Maksimova, Y.G., 2019. Microorganisms and carbon nanotubes: interaction and

- applications (review). *Applied biochemistry and microbiology*, 55, 1-12.
- Martín, N., 2011. Sobre fullerenos, nanotubos de carbono y grafenos. *ARBOR Ciencia, pensamiento y cultura* 187, 115–131.
- Martínez-Ballesta, M.C., Zapata, L., Chalbi, N., Carvajal, M., 2016. Multiwalled carbon nanotubes enter broccoli cells enhancing growth and water uptake of plants exposed to salinity. *J. Nanobiotechnology* 14, 1–14.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Maubert, M., Soto, L., León, A.M., Flores, J., 2009. Nanotubos de carbono-la era de la nanotecnología. *Razón y palabra*, (68).
- McGehee, D.L., Lahiani, M.H., Irin, F., Green, M.J., Khodakovskaya, M. V., 2017. Multiwalled carbon nanotubes dramatically affect the fruit metabolome of exposed tomato plants. *ACS applied materials & interfaces*, 9(38), 32430-32435.
- McNeil, S.E., 2005. Nanotechnology for the biologist. *Journal of leukocyte biology*, 78(3), 585-594.
- Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L. A., Puente-Urbina, B. A., & Lira-Saldívar, R.H., 2016. Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annuum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova scientia*, 8(17), 140-156.
- Méndez-López, A., González-García, Y., Juárez-Maldonado, A., 2022. Stimulatory role of nanomaterials on agricultural crops. *Nano-enabled Agrochem. Agric.* 219–246.
- Merchán-gaitán, J.B., Ferrucho, R.L., Álvarez-herrera, J.G., 2019. Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Botrytis cinerea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp.). *Revista colombiana de ciencias hortícolas de Botrytis cinerea y la calidad del fruto en fresa*.
- Mora-Herrera, M.E., Peralta-velázquez, J., López-delgado, H.A., García-velasco, R., González-díaz, J.G., 2011. Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa en plantas de crisantemo. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17(SPE2), 73-81.
- Nagata, M., Yamashita, I., 1992. Method tomato masayasu\* national Nagata\* and ichiji Yamashita\* of vegetables ornamental plants and tea, ministry of agriculture. Forestry and fisheries. *Forestry*, 39, 1-4.

- Naika, S., Jeude, J. van L. de, Goffau, M. de, Hilmi, M., Dam, B. van, 2005. Cultivation of tomato. Cultiv. tomate. Prod. Proces. y Comer. Agromisa/CTA.
- Namesny, A., 2022. El grafeno, también útil para la horticultura. Horticultura internacional, 47, 12-26.
- Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M., Sajjadi, M., & Issaabadi, Z. (2019). An introduction to nanotechnology. In Interface science and technology (Vol. 28, pp. 1-27). Elsevier.
- Obregón, V. (2018). Guía para la identificación de las enfermedades de tomate en invernadero. Instituto nacional de tecnología agropecuaria (pp 20-21).
- Panno, S., Davino, S., Caruso, A.G., Bertacca, S., Crnogorac, A., Mandić, A.M., Noris, E., Matićmatić, 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(11), 2188.
- Patel, A., Tiwari, S., Parihar, P., Singh, R., & Prasad, S. M. (2019). Carbon nanotubes as plant growth regulators: impacts on growth, reproductive system, and soil microbial community. In Nanomaterials in plants, algae and microorganisms (pp. 23-42). Academic Press.
- Pérez-Pérez, E., Ettiene, G., Marín, M., Casassa-Padron, A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L., Medina, D., 2014. Determination of total phenols and flavonoids in guava leaves (*Psidium guajava* L.). Revista de la Facultad de Agronomía, 60-77.
- Pradeep, T., 2007. Nano: lo esencial: comprender la nanociencia y la nanotecnología . Educación McGraw-Hill.
- Ram, P., Vivek, K., Kumar, S.P., 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. African J. Biotechnol. 13, 705–713.
- Reyes, A.V., 2017. Tejidos vegetales Resumen. Vida Científica Boletín Científico la Esc. Prep.
- Ripardo-Filho, H. da S., Ruíz, V.C., Suárez, I., Moraga, J., Aleu, J., Collado, I.G., 2023. From Genes to Molecules, Secondary Metabolism in *Botrytis cinerea*: new insights into anamorphic and teleomorphic stages. Plants 12, 553.
- Rivera-Gutiérrez, R.G., Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernández, M., Betancourt-Galindo, R., Yescas-Coronado, P., Orozco-Vidal, J.A., 2021. Nanopartículas de óxido de zinc y su efecto en el rendimiento y calidad de melón. Rev. Mex. Ciencias Agrícolas 12, 791–803.

- Rodrigues, M., Baptistella, J.L.C., Horz, D.C., Bortolato, L.M., Mazzafera, P., 2020. Organic plant biostimulants and fruit quality-a review. *Agronomy*, 10(7), 988.
- Romanazzi, G., & Feliziani, E. (2014). *Botrytis cinerea* (gray mold). Postharvest decay 131-146.
- Rossini, M., Azar, G., Iglesias, N., Giayetto, A., Azpilicueta, C., González, M., Ruiz, C., Ohaco, P., 2010. Enfermedades de mayor importancia de los principales cultivos hortícolas de la región Patagonia Norte. EEA alto valle, INTA.
- Saborío, F., 2002. Bioestimulantes en fertilización foliar. Fertil. Foliar principios y Apl.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2019. Producción de jitomate en invernadero.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020. El jitomate, hortaliza mexicana de importancia mundial \_ Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural \_ Gobierno \_ gob.mx.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022a. El jitomate, hortaliza mexicana de importancia mundial.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022b. México, referente mundial en el cultivo y exportación de jitomate: Agricultura.
- Siddiqui, Z.A., Parveen, A., Ahmad, L., Hashem, A., 2019. Effects of graphene oxide and zinc oxide nanoparticles on growth, chlorophyll, carotenoids, proline contents and diseases of carrot. *Scientia Horticulturae*, 249, 374-382.
- Steiner, A.A., 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant soil* 15, 134–1 54.
- Taheri, P., Tarighi, S., 2010. Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway. *Journal of plant physiology* 167, 201–208.
- Tripathi, S., Sonkar, S.K., Sarkar, S., 2011. Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes. *Nanoscale* 3, 1176–1 181.
- Tropicos (2023) Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Recuperado de <https://www.tropicos.org/name/29605838>.
- Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S.A., Rehman, H. ur, Ashraf, I., Sanullah, M., 2020. Nanotechnology in agriculture: current status, challenges and future opportunities. *Science total environ.* 721, 137778.
- Vega, O.F., 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo

- Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 62 p. 96 - 100.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant science*, 151(1), 59-66.
- Vera, K., Schafer, R., Fisher, T.S., Keller, A.A., White, J.C., Mukherjee, A., Majumdar, S., Servin, A.D., Pagano, L., Dhankher, O.P., 2016. Carbon nanomaterials in agriculture: a critical review. *Frontiers in plant science*, 7, 172.
- 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 total environ.* 667, 485–499.
- Wang, Z., Xie, X., Zhao, J., Liu, X., Feng, W., White, J.C., Xing, B., 2012. Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environ. science technol.* 46, 4434–4441.
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology*, 8(5), 561-580.
- Younes, N.A., Dawood, M.F.A., Wardany, A.A., 2019. Biosafety assessment of graphene nanosheets on leaf ultrastructure, physiological and yield traits of *Capsicum annuum* L. and *Solanum melongena* L. *Chemosphere* 228, 318–327.
- Youssef, K., Roberto, S.R., 2014. Salt strategies to control *Botrytis* mold of “benitaka” table grapes and to maintain fruit quality during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 95, 95-102.
- Yu, Z., Dahlgren, R.A., 2000. Polyphenols in Conifer Foliage. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 2119-2140.
- Zhang, X., Cao, H., Zhao, J., Wang, H., Xing, B., Chen, Z., Li, X., Zhang, J., 2021. Graphene oxide exhibited positive effects on the growth of *Aloe vera* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27, 815-824.
- Zhou, R., Ferrante, A., Wani, S.H., Benavides-Mendoza, A., González-Morales, S., Solís-Gaona, S., Valdés-Caballero, M.V., Juárez-Maldonado, A., Loredó-Treviño, A., 2021. Transcriptomics of biostimulation of plants under abiotic stress. *Frontiers in Genetics*, 12, 583888.