

Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**NANOPARTÍCULAS METÁLICAS COMO PROMOTORAS DE LA
GERMINACIÓN Y COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS EN TOMATE**

TESIS QUE PRESENTA:

Jose Manuel Espinoza Pinelo

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS

DIRECTOR:

Dr. Ernesto Castañeda Hidalgo

CODIRECTOR:

Dr. Heriberto Cruz Martínez



Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**NANOPARTÍCULAS METÁLICAS COMO PROMOTORAS DE LA
GERMINACIÓN Y COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS EN TOMATE**

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN
AGROECOSISTEMAS**

TESIS QUE PRESENTA:

Jose Manuel Espinoza Pinelo

DIRECTOR:

Dr. Ernesto Castañeda Hidalgo

CODIRECTOR:

Dr. Heriberto Cruz Martínez



La presente tesis titulada: **Nanopartículas metálicas como promotoras de la germinación y compuestos antifúngicos en tomate**, fue realizada bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS

DIRECTOR

DR. ERNESTO CASTAÑEDA HIDALGO

CODIRECTOR

DR. HERIBERTO CRUZ MARTÍNEZ

ASESOR

Ph. D. SALVADOR LOZANO TREJO

ASESOR

Dr. JOSÉ CRUZ CARRILLO RODRÍGUEZ



	Nombre de la Información Documentada:	Código: ITVO-AC-PR-08-02
	Formato Autorización del comité para entrega de tesis.	Revisión: 1
	Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.2.1, 8.2.2, 8.2.3, 8.5.2	Página 1 de 1

EXPEDIENTE: **20DIT0009G**

Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca: **20/Noviembre/2024**

ASUNTO: **Autorización del comité para entrega de Tesis.**

C. JOSE MANUEL ESPINOZA PINELO
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS
PRESENTE

Los que suscriben, miembros de su Comité Tutorial, le comunicamos que hemos revisado el contenido de su tesis **"Nanopartículas metálicas como promotoras de la germinación y compuestos antifúngicos en tomate"**. Por lo que, con base en los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México vigente, se le otorga la **AUTORIZACIÓN** para que proceda a la entrega del documento final de la misma en formato digital (PDF) para continuar con su trámite y asignarle la fecha de su examen de grado.

Sin más por el momento nos permitimos reconocer su esfuerzo y felicitarle por el logro de su documento de tesis.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®.
Ciencia y Tecnología para el Campo*


DR. ERNESTO CASTAÑEDA HIDALGO
DIRECTOR DE TESIS


DR. HERIBERTO CRUZ MARTÍNEZ
CO-DIRECTOR


DR. SALVADOR LOZANO TREJO
ASESOR


DR. JOSÉ CRUZ CARRILLO RODRIGUEZ
ASESOR


DR. YURI VILLEGAS APARICIO
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL VALLE DE OAXACA

C.p. Comité Tutorial.
Expediente.

YVA/mhz

ITVO-AC-PR-08-02

Toda copia en PAPEL es un "Documento No Controlado" a excepción del original

REV.1



	Nombre de la Información Documentada: Formato Autorización de DEPI para entrega de Tesis.	Código: ITVO-AC-PR-08-03
	Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.2.1, 8.2.2, 8.2.3, 8.5.2	Revisión: 1
		Página 1 de 1

EXPEDIENTE: 20DIT0009G

No. DE OFICIO: DEPI/1245/2024

Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca: 20/Noviembre/2024

ASUNTO: Autorización de entrega de Tesis.

**C. JOSE MANUEL ESPINOZA PINELO
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAestrÍA EN CIENCIAS
EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS
PRESENTE**

Con base en los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México, respecto a la presentación del examen de grado, me es muy grato comunicarle que esta División de Estudios de Posgrado e Investigación a mi cargo, **AUTORIZA** la entrega del documento final de su tesis en formato digital (PDF) titulada: **"Nanopartículas metálicas como promotoras de la germinación y compuestos antifúngicos en tomate"**.

Cuyo contenido ha sido revisado y aprobado por su Comité Tutorial y cumple en lo general con el formato establecido para este documento, como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Productividad en Agroecosistemas.

Sin más por el momento le felicito cordialmente por el logro de esta meta y le reitero el respaldo institucional de su Alma Mater.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®.
Ciencia y Tecnología para el Campo*

DR. YURI VILLEGAS APARICIO
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL VALLE DE OAXACA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

C.p. Expediente.

YVA/mhz

El presente trabajo se llevó a cabo con el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), a través del número de becario 1239883, con el tema de investigación: Evaluación de nanopartículas como promotoras de la germinación y compuestos antifúngicos en tomate.

DEDICATORIAS

A Dios, porque sé que, a pesar de todas las adversidades, siempre estuvo presente en mi mente para darme ánimos y poder concluir satisfactoriamente este trabajo. Todo esto se lo debo a él y a mi santísima virgen de Juquila.

A mis padres, la Sra. Araceli Minerva Pinelo Vásquez y el Sr. Lorenzo Telésforo Espinoza Figueroa, por el amor, apoyo y ánimos que me dieron para terminar esta meta, porque sé que no fue un camino de felicidad, pero me dieron la fuerza para continuar en los momentos en los que creí no poder continuar.

A mis tíos, la Sra. Juana J. Gonzalez Castellanos y el Sr. Florencio Pinelo Vásquez; a los que comúnmente me refiero como mis “segundos padres”, porque no me alcanzaría toda la vida para agradecerles por todo el amor y apoyo que me brindaron.

A mis hermanas Sofía y Anahí, porque no sé si sea un ejemplo para ellas, pero puedo ser una guía en su formación como profesionales y como personas. Espero que compartan esta alegría conmigo.

A mis primas, la Dra. Concepción G. Pinelo Gonzalez y la C. D. Mariana M. Pinelo Gonzalez; me sobra decirles que el poner su nombre aquí no es una obligación, sino un gran agradecimiento por el apoyo que siempre me dieron.

A mi abuela, la Sra. Olga Pinelo Vasquéz, porque los consejos y regaños que me dio sé que no fueron con mala intención, sino porque quería que fuera la persona que soy hoy.

A mi abuela, la Sra. Gloria Pinelo Vasquez (†), porque sé que desde donde estás, no rompiste tu promesa de estar conmigo en los momentos más felices de mi vida. ¡Este es nuestro momento!

A mi abuelo, Sr. Ramiro Pinelo Pinelo (†); no falle al decir que fue un placer tenerte como mi abuelo, como mi familia. Este éxito también es para ti; siéntete orgulloso del nieto que criaste como un hijo.

A mi padrino, el Capitán Delfino Cruz Hernandez (†); el motivador personal más enérgico que conocí, fue un honor poder convivir y disfrutar grandes momentos como amigos. Este trabajo es con mucho cariño para usted.

AGRADECIMIENTOS

A la Fundación Telmex-Telcel A.C., por brindarme un acompañamiento en el transcurso de mi vida académica, y por brindarme herramientas necesarias para complementar mi formación.

Al M. E. Adrián Martínez Vargas, director del Instituto Tecnológico del Valle de Etna (ITVE), por permitirme trabajar en sus instalaciones para realizar mi trabajo experimental. Siempre seré... ¡Orgullosamente ITVE!

A la Dra. Marisa Guadalupe Flores Aguilar, directora del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca; gracias por las oportunidades y facilidades que me brindó para que este día llegara. Le agradezco por todo esto.

A mi amigo, el Lic. Víctor Manuel Martínez Farfán, por ofrecerme su apoyo y orientación para el desarrollo de este trabajo de investigación.

A mi amigo, el M. C. Pablo Salinas Ventura; viejón, lograste esto antes y me dio mucho gusto ver que todo tu esfuerzo valió la pena. Estamos en los mismos bandos, amigo, y solo quiero darte las gracias por el apoyo brindado.

A mi compi, la Ing. Elizabeth Lopez López; porque, aunque no estudiamos lo mismo, en los momentos que necesitaba una ayuda, tú siempre estuviste dispuesta a tenderme la mano; por todo esto, es que eres mi mejor amiga.

A la M. C. Arely C. Aragón, porque me ayudó y estuvo en la disposición de apoyarme en lo que no entendía. Eso es tener una buena actitud de servicio.

A doña Mary Zarate, por su esfuerzo realizado para que este día llegara; fue un proceso tedioso, pero valió la pena.

A mi amiga, Marycarmen Guevara López, porque en el poco tiempo que convivimos en el posgrado, formamos una amistad. Le debo muchas gracias por todos y cada uno de los procesos en los que me apoyó; no crea que me olvido de usted.

A mis compañeros de maestría, un placer conocerlos y poder trabajar con ustedes; de todos aprendí cosas nuevas y me llevo las vivencias así como las experiencias que pasamos.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE ANEXOS.....	vi
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo general.....	5
1.2 Objetivos específicos.....	5
1.3 Hipótesis general.....	5
1.4 Hipótesis específicas.....	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 El impacto de las NPs en la agricultura.....	7
2.1.1 NPs de Cu.....	7
2.1.2 NPs de Zn.....	9
2.2 Síntesis de NPs.....	10
2.2.1 Ruta química.....	10
2.2.2 Ruta verde.....	11
2.2.3 Ruta física.....	12
2.3 La síntesis de NPs como proceso ajustable.....	13

2.4 Efecto de las NPs en la promoción de la germinación.....	15
2.4.1 Interacción planta-nanopartículas.....	16
2.5 El efecto antifúngico de las NPs.....	17
2.5.1 Interacción planta-hongo-nanopartícula.....	17
2.6 El interés de la nanotecnología agrícola en el cultivo de tomate.....	19
2.6.1 Importancia económica del tomate.....	20
2.6.2 Retos de la germinación y el establecimiento del cultivo.....	20
2.6.3 Desafíos en el manejo de la marchitez del tomate por FOL.....	21
CAPÍTULO III. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE Cu-Zn Y SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	24
Resumen.....	24
Abstract.....	25
3.1 Introducción.....	24
3.2 Materiales y métodos.....	26
3.2.1 Etapa I. Síntesis de NPs de Cu-Zn.....	26
3.2.1.1 Técnicas para la caracterización.....	27
3.2.2 Etapa II. Evaluación del efecto germinativo en semillas de tomate.....	28
3.2.3 Diseño experimental.....	28
3.2.4 Variables a evaluar.....	29
3.2.5 Análisis de datos.....	30
3.3 Resultados y discusión.....	30
3.3.1 Caracterización del material sintetizado.....	30
3.3.2 Evaluación del efecto germinativo.....	35
3.3.3 Influencia del tamaño de las NPs en la germinación.....	38
3.4 Conclusiones.....	38
3.5 Bibliografía.....	38

CAPÍTULO IV. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE NANOPARTÍCULAS DE Cu-Zn SOBRE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (FOL)	43
Resumen.....	43
Abstract.....	43
4.1 Introducción.....	44
4.2 Materiales y métodos.....	45
4.2.1 Etapa I. Evaluación <i>in vitro</i>	45
4.2.1.1 Variables a evaluar.....	46
4.2.2. Etapa II. Evaluación <i>in vivo</i>	46
4.2.2.1 Variables a evaluar.....	47
4.2.3 Diseño experimental.....	47
4.2.4 Análisis de datos.....	47
4.3 Resultados y discusión.....	47
4.3.1 El efecto antifúngico <i>in vitro</i>	47
4.3.2 El efecto antifúngico <i>in vivo</i>	49
4.4 Conclusiones.....	51
4.5 Bibliografía.....	51
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES	54
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA GENERAL	57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
3.1 Combinaciones molares empleadas de NPs en la síntesis.....	27
3.2 Tratamientos a evaluar.....	28
3.3 Resultados del análisis estructural y elemental de las NPs de Cu-Zn bajo diferentes concentraciones.....	30
3.4 Comparación de medias sobre las variables estimables en el proceso de germinación de semillas de tomate por acción de las NPs mediante Tukey ($p \leq 0.05$).....	35
3.5 Comparación de medias sobre las variables morfométricas en el proceso de germinación de semillas de tomate por acción de las NPs mediante Tukey ($p \leq 0.05$).....	36
4.1 Tratamientos a evaluar en la etapa <i>in vitro</i>	45
4.2 Tratamientos a evaluar en la etapa <i>in vivo</i>	46
4.3 Escala para evaluar la severidad de la enfermedad del tomate por FOL*.....	47
4.4 Comparación de medias de los tratamientos evaluados NPs Cu-ZnO mediante Tukey ($p \leq 0.05$).....	48

4.5	Resultados obtenidos en la prueba <i>in vivo</i> de las NPs Cu-Zn frente FOL comparados por Tukey ($p \leq 0.05$).....	50
-----	--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
3.1	Caracterización fisicoquímica de las NPs de Cu-Zn sintetizadas.....	31
3.2	Análisis estructural XRD del material sintetizado.....	34
3.3	Plántulas bajo el efecto de las NPs de Cu-Zn bajo diferentes concentraciones.....	37
4.1	Efecto inhibitorio del FOL en medios de cultivo con NPs a diferentes concentraciones	48
4.2	Comparación visual del efecto antifúngico de las NPs a los 45 días post inoculación del FOL en planta.....	50

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		Página
I.	Análisis de covarianza del efecto del tamaño en las variables de germinación evaluadas	69

RESUMEN

La presencia del *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (FOL) y la germinación de las semillas de tomate, son retos en el establecimiento del cultivo, por lo que el uso de nanopartículas metálicas a base de Cu y Zn son una alternativa que permite el crecimiento y desarrollo de esta hortaliza, principalmente porque forman nanomateriales bimetálicos que cumplan un efecto dual en la promoción de la germinación y la creación de compuestos antifúngicos. La investigación se realizó en el 2024 en el ITVE con el objetivo de sintetizar nanopartículas de Cu y Zn bajo ruta química en estas proporciones: Cu_{25%}-Zn_{75%}; Cu_{50%}-Zn_{50%} y Cu_{75%}-Zn_{25%} y evaluar su efecto en la germinación y el desarrollo de compuestos antifúngicos. Para la combinación a base de Cu_{25%}-Zn_{75%}, se reportó una forma de ojiva y tamaño de 44.5±14.20 nm; mientras que para Cu_{50%}-Zn_{50%} y Cu_{75%}-Zn_{25%}, reportaron forma semiesférica y tamaños de 64.32±14.72 y 86.75±8.46 nm, respectivamente. Se identificaron diferentes fases cristalinas oxidadas como el CuO, Cu₂O y ZnO en cada una de las aleaciones, las cuales diversificaron la composición de las mismas, lo que mejora las propiedades de cada aleación de acuerdo con el análisis XRD. En relación a la evaluación del efecto de estas nanopartículas a diferentes concentraciones en la germinación de semillas de tomate var. Moctezuma F1; el tratamiento de Cu_{75%}-ZnO_{25%} a una concentración de 50 mg L⁻¹, presentó un Pg del 95% y un Tg de siete días con un alto Iv; siendo superior a la mayoría de los demás tratamientos, según Tukey ($p \leq 0.05$); se demostró que no existe ninguna significancia entre el tamaño de la nanopartícula y las variables evaluadas. De igual forma se utilizó esta combinación a concentraciones de 1 000 mg L⁻¹ para evaluar el MIP frente FOL, donde este tratamiento se evaluó *in vitro*, con un MIP de hasta 95.87%, similar al del tratamiento a base de Cu puro en la misma concentración, lo que permite frenar el desarrollo del hongo. Mientras que la parte *in vivo*, usando esta aleación, pero con una concentración de 2 000 mg L⁻¹, se observó que redujó la In de la enfermedad hasta en un 80%, disminuyendo la Se de los síntomas de la marchitez en comparación con el tratamiento control, según Tukey ($p \leq 0.05$). Estos resultados sugieren que este tratamiento es una opción favorable para garantizar la germinación de las semillas y frenar el desarrollo del FOL.

Palabras clave: Aleación, Antifungicos, Bimetálicas, Nanomateriales, Promotoras de la germinación.

ABSTRACT

The presence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) and the germination of tomato seeds are challenges in the establishment of the crop, so the use of metal nanoparticles based on Cu and Zn are an alternative that allows the growth and development of this vegetable, mainly because they form bimetallic nanomaterials that fulfill a dual effect in promoting germination and the creation of antifungal compounds. The research was conducted in 2024 at ITVE with the objective of synthesizing Cu and Zn nanoparticles under chemical route in these proportions: Cu_{25%}-Zn_{75%}; Cu_{50%}-Zn_{50%} and Cu_{75%}-Zn_{25%} and evaluate their effect on germination and development of antifungal compounds. For the Cu_{25%}-Zn_{75%} based combination, they reported an ogive shape and size of 44.5±14.20 nm; while for Cu_{50%}-Zn_{50%} and Cu_{75%}-Zn_{25%} they reported hemispherical shape and sizes of 64.32±14.72 and 86.75±8.46 nm, respectively. Different oxidized crystalline phases such as CuO, Cu₂O and ZnO were identified in each of the alloys, which diversified the composition of the alloys, thus improving the properties of each alloy according to XRD analysis. Regarding the evaluation of the effect of these nanoparticles at different concentrations on the germination of tomato seeds var. Montezuma F1; the Cu_{75%}-Zn_{25%} treatment at a concentration of 50 mg L⁻¹, presented a Pg of 95% and a Tg of seven days with a high Iv; being superior to most of the other treatments, according to Tukey ($p \leq 0.05$); it was demonstrated that there is no significance between the size of the nanoparticle and the evaluated variables. Similarly, this combination was used at concentrations of 1 000 mg L⁻¹ to evaluate the MIP against FOL, where this treatment was evaluated *in vitro*, with a MIP of up to 95.87%, similar to that of the treatment based on pure Cu at the same concentration, which allows slowing down the development of the fungus. While the *in vivo* part, using this alloy, but with a concentration of 2 000 mg L⁻¹, it was observed that it reduced the In of the disease by up to 80%, reducing the Se of wilt symptoms compared to the control treatment, according to Tukey ($p \leq 0.05$). These results suggest that this treatment is a favorable option to guarantee seed germination and slow FOL development.

Index words: Alloy, Antifungal, Bimetallic, Nanomaterials, Promote germination.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La agricultura convencional enfrenta situaciones que comprometen el desarrollo de los cultivos esenciales a causa de diversos factores como son las enfermedades fúngicas y la mala calidad de las plántulas germinadas, los cuales repercuten la producción y el rendimiento. Esta situación, ha llevado a la utilización de grandes cantidades de agroquímicos, principalmente fertilizantes nitrogenados y fosfatados, así como de antifúngicos, para tratar de asegurar el desarrollo óptimo de los cultivos (Sumberg et al., 2022; Mukah et al., 2023).

En este contexto, el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) como cultivo presenta dicha situación, ya que ha disminuido su rendimiento, principalmente por el ataque de hongos patógenos como el *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* (FOL) que desafortunadamente ha desarrollado resistencia a los compuestos activos antifúngicos, producto del abuso de estos por parte de los agricultores para controlar el desarrollo de la enfermedad (Malandrakis et al., 2020; López-Lima et al., 2021).

El problema se agrava debido a el empleo de cantidades exageradas de fertilizantes para la nutrición de los cultivos, los cuales contribuyen a la salinización de los suelos agrícolas, y que desafortunadamente no se aprovechan en su totalidad, lo que modifica la estructura y propiedades del suelo, y que compromete la germinación y desarrollo de las plántulas de tomate (Ahmad & Sarbon, 2021).

Las nanopartículas (NPs) se han convertido en una alternativa de solución a los retos que se presentan en el desarrollo del cultivo. Estas derivan principalmente de metales, óxidos metálicos y biopolímeros, que son evaluados de forma pura o monometálicas y que ayudan a mejorar las condiciones del suelo para la germinación de semillas de tomate, facilitando su adaptación al entorno y proviendo de forma prolongada los requerimientos necesarios para el desarrollo de plántulas de tomate (Cruz-Luna et al., 2021). Además, realizan una acción efectiva en el combate de hongos fitopatógenos, posiblemente mejor a los fungicidas comerciales (López-Lima et al., 2021).

Es por ello que nace la necesidad de combinar estas propiedades de las NPs para dar paso a la creación de compuestos bimetálicos, que al entrar en contacto con el sistema suelo-planta, pueden desarrollar de forma conjunta o paralela determinada función en el medio, ya sea como antifúngico o bien como protector del proceso de germinación de las semillas, de forma rápida y eficiente (Arora et al., 2020; Ferreira et al., 2020).

Sin embargo, a pesar de que estas NPs poseen ventajas muy significativas respecto a los agroquímicos convencionales, el problema de estas estructuras es que los procesos de síntesis son variados y limitados, por lo que los rendimientos

en cuanto a la generación de estos materiales son bajos. Además, existe una enorme variación en cuanto el tamaño y la forma según la interacción de los compuestos con los medios de síntesis, lo que puede repercutir en su funcionamiento (Paramo et al., 2020).

El problema de la síntesis de estas partículas es la limitada diversidad de procedimientos existentes bajo determinadas rutas (química, física o biológica), donde no se puede predecir un comportamiento normal del material sintetizado, debido a diversos factores como la forma de aprovechamiento, reducción de los agentes precursores y la optimización del proceso. Sin embargo, esto permite la generación de adaptaciones que den paso a la formación de compuestos bicombinados, que en su mayoría se basa en aleaciones acorde a criterios selectivos de proporción y aprovechamiento (Loza et al., 2020; Raju et al., 2022).

Por esta razón, surge la necesidad de adaptar y mejorar los procedimientos ya existentes, que den paso a la generación de compuestos bimetálicos acoplados a una ruta específica; lo que permite a la síntesis generar estos materiales de forma gradual, al agregar pequeños o medianos fragmentos nanométricos de un material en otro, lo que mejora sus propiedades y estructura, dándoles un carácter bifuncional o multipropósito (Ahmad et al., 2020; Mittal et al., 2020).

También es importante considerar elementos que posean compatibilidad y generen sinergia entre ellos, para garantizar la efectividad de la aleación del nanomaterial en las actividades para los que fueron sintetizados. Por ejemplo, el cobre (Cu) que además de ser parte de los ingredientes activos de la mayoría de los fungicidas funge como nutriente de las plantas, así como el Zinc (Zn), que

también posee actividad antimicrobiana efectiva frente bacterias y hongos (Cruz-Luna et al., 2021; Cruz-Luna et al., 2023).

El desarrollo de aleaciones a base de NPs de Cu-Zn como un compuesto bimetálico, permite combinar las propiedades antibacterianas del Cu y las propiedades catalíticas del Zn; por tanto, la unión de estas NPs puede proporcionar una solución avanzada para mejorar la calidad del suelo y estimular la germinación y el desarrollo de los cultivos. Además, se aumenta la resiliencia de estos en condiciones adversas y se contrarresta el ataque de patógenos en el desarrollo de las plantas (Paramo et al., 2020; Cruz-Luna et al., 2023).

Desafortunadamente, no existe un método en específico que permita la formación de aleaciones con las NPs de Cu-Zn en proporciones variadas definidas, derivado de que el agente reductor tiende a favorecer a un solo compuesto, lo que afecta la porción establecida en beneficio del precursor reducido en su totalidad contrario al que tuvo poca interacción el agente reductor, siendo este último punto, el factor clave que permite adaptar y mejorar el procedimiento de “síntesis para la formación de compuestos bimetálicos” bajo proporciones determinadas acorde con las necesidades para lo cual son diseñados (Loza et al., 2020; Raju et al., 2022).

Por lo que este trabajo aplica un procedimiento adaptado que permite la síntesis de NPs de Cu-Zn en proporciones preestablecidas, por medio de una ruta química modificada que da paso a la formación de compuestos bimetálicos funcionales para ser aplicados en áreas determinadas, como la promoción de la germinación y la elaboración de compuestos antifúngicos aplicador a tomate.

1.1 Objetivo general

Sintetizar NPs de Cu-Zn y su evaluación como promotoras de la germinación de semillas de tomate y formación de compuestos antifúngicos frente a *F. oxysporum* sp. f. *lycopersici* (FOL) bajo condiciones controladas.

1.2 Objetivos específicos

- I. Sintetizar aleaciones de NPs a base de Cu-Zn mediante ruta química, bajo proporciones preestablecidas para la formación de un nanomaterial bimetalico.
- II. Evaluar el efecto de NPs sintetizadas Cu-Zn en la promoción de la germinación de semillas de tomate bajo condiciones controladas.
- III. Evaluar el efecto antifúngico de NPs de Cu-Zn contra *F. oxysporum* sp. f. *lycopersici* (FOL) bajo condiciones controladas *in vitro* e *in vivo* en el tomate.

1.3 Hipótesis general

Las NPs de Cu y Zn sin importar su proporción, podrían actuar como un nanomaterial bifuncional que promueve la germinación de semillas de tomate y

producen compuestos antifúngicos, lo que genera resistencia de las plantas frente a FOL

1.4 Hipótesis específicas

1. La síntesis de NPs de Cu y Zn mediante métodos químicos controlados generará un nanomaterial bimetálico con un tamaño y forma estandarizada.
2. Al menos un tratamiento a base de NPs de Cu y Zn a diferentes proporciones y concentraciones, tendrá un efecto estimulante en la germinación de semillas de tomate debido a la interacción sinérgica de estos elementos.
3. Cualquiera de los tratamientos con NPs de Cu y Zn en diferentes proporciones, generará compuestos antifúngicos que inhibirán el crecimiento de FOL.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 El impacto de las NPs en la agricultura

El uso de NPs en la agricultura es un campo emergente con potencial para revolucionar la forma en que se cultivan los alimentos; y estas oscilan entre 1 a 100 nm de tamaño, las cuales derivan principalmente de compuestos metálicos, óxidos metálicos, biopolímeros o elementos orgánicos que poseen muchas aplicaciones dentro de la agricultura, convirtiéndose en alternativas a los agroquímicos (Cruz-Luna et al., 2021; Cruz-Luna et al., 2023).

Dentro de este contexto se engloban dos principales tipos que se muestran a continuación por sus propiedades variadas.

2.1.1 NPs de Cu

Es un metal del cual se derivan la mayor parte de las formulaciones de NPs que poseen una amplia gama de aplicaciones en la agricultura, al ser empleadas

en el combate a enfermedades fitosanitarias a causa de hongos, bacterias, virus, entre otros; así como en la formulación de fertilizantes de liberación prolongada para la nutrición de las plantas, además de la absorción de otros nutrientes indispensables para el desarrollo de las plantas en estadíos pre germinativos, germinativos y post germinativos, lo que mejora la adaptación de la semilla en el suelo (Malandrikis et al., 2021; Ahmad et al., 2021).

Estas nanopartículas funcionan a través de la generación de formas reactivas de oxígeno (ROS), como los radicales libres y el peróxido de hidrógeno, atacan y dañan las membranas celulares, las proteínas y los ácidos nucleicos de los patógenos, lo que deriva en su muerte. Además, de que tienden a liberar iones de cobre (Cu^{2+}) de forma controlada; los cuales interfieren con procesos metabólicos esenciales de los microorganismos, como la respiración y la síntesis de proteínas, y contribuyen así a sus efectos bactericidas y fungicidas (Malandrakis et al., 2020; Mohamed et al., 2021).

En el campo de la fertilización, mejoran la absorción de nutrientes por las plantas a través de un mecanismo de liberación controlada, puesto que están diseñadas para liberar iones de Cu de forma gradual y sostenible, asegurando que este micronutriente esencial esté siempre disponible. Este proceso previene la toxicidad debida a la acumulación de Cu y maximiza la eficiencia de absorción de nutrientes y el crecimiento de las plantas (Loza et al., 2020; López-Lima et al., 2021).

Recientemente, este material cobra importancia por sus aplicaciones en el combate a las enfermedades por *F. oxysporum* y *Phytophthora infestans*, en

cultivos como el tomate y la papa, y han demostrado resultados superiores a los obtenidos con el uso de antifúngicos comerciales (Mohamed et al., 2021).

2.1.2 NPs de Zn

Similar al Cu, estas NPs son usadas en diferentes modalidades como es la creación de estimuladores del crecimiento vegetal, el combate a hongos y bacterias que afectan estadíos primarios de las plantas (germinación y desarrollo) así como la creación de nutrientes altamente eficientes, que permitan mejorar y acelerar gran parte de los procesos fisiológicos de las plantas, para garantizar un óptimo desarrollo (González-Merino et al., 2021; Singh et al., 2021).

Las NPs de Zn son conocidas por sus fuertes propiedades antibacterianas y fotocatalíticas al generar especies reactivas de oxígeno (ROS), que atacan y destruyen las membranas celulares, las proteínas y los ácidos nucleicos de los patógenos, lo que provoca la descomposición de las células fúngicas y bacterianas, lo que genera una defensa eficaz contra diversas enfermedades que afectan a las plantas (Mohamed et al., 2021; Paraguay-Delgado et al., 2022).

El mecanismo de acción contra hongos se basa en la generación de ROS y la liberación de iones de zinc (Zn^{2+}), donde estos iones de Zn interfieren en los procesos metabólicos y enzimáticos de los hongos. Además, estos iones son esenciales para las plantas, ya que mejoran la salud y la resistencia a enfermedades al activar enzimas antioxidantes y promover la síntesis de proteínas y hormonas de crecimiento (Rai-Kalal & Jajoo, 2021).

De la Rosa et al. (2013) reportan en su investigación sobre la eficacia de NPs contra el tizón tardío del tomate, enfermedad causada por el hongo *P. infestans*

que puede destruir los cultivos en su totalidad, en el que se logró estimular en periodos cortos la germinación de las semillas de esta hortaliza. Por su parte Singh et al. (2021) reportan que el efecto de las NP de Zn frente al hongo *Botrytis cinerea*, logra una reducción de la tasa de incidencia al mitigar los síntomas de esta enfermedad en las hojas y fruta.

2.2 Síntesis de las NPs

Existen diversos métodos de síntesis de NPs, que permiten obtener nanopartículas con un determinado tamaño o forma. Algunas de las más conocidas son las siguientes:

2.2.1 Ruta química

Generalmente, en esta ruta se implica la preparación de soluciones precursoras que contienen los componentes necesarios para formar las partículas deseadas. La solución precursora puede incluir sales metálicas u otros compuestos que se reducen para formar el material de NPs. Posteriormente, se añaden agentes reductores y estabilizadores para controlar la velocidad de reacción y evitar la aglomeración de partículas (Islam et al., 2014; Ijaz et al., 2020).

Una vez realizado el proceso de reducción, las NPs comienzan a crecer a partir de los núcleos formados y este puede controlarse agregando reactivos gradualmente o manipulando las condiciones de reacción (Ravazi et al., 2015; De Souza et al., 2019).

Dentro de esta ruta se catalogan los siguientes métodos:

1. Métodos de reducción: implican la reducción de iones metálicos en solución utilizando agentes reductores para formar NPs metálicas. Pueden ocurrir en fase acuosa u orgánica y permiten controlar el tamaño y la forma de estas estructuras (Guzmán et al., 2009; Hussain et al., 2020).
2. Métodos de precipitación: consisten en la formación de NPs a partir de la reacción de dos soluciones que contienen precursores, donde se produce la precipitación de los componentes para formar las nanopartículas deseadas (Phiwdang et al., 2013; Ghorbani et al., 2015).
3. Métodos de síntesis sol-gel: implican la formación de una solución gelatinosa que luego se convierte en un sólido a través de procesos de secado y calcinación, resultando en NPs dispersas en una matriz vítrea (Mackenzie & Bescher, 2007; Parashar et al., 2020).
4. Métodos de microemulsión: utilizan micelas formadas por surfactantes en soluciones acuosas u orgánicas para controlar la nucleación y el crecimiento de NPs en compartimentos nanométricos, permitiendo un control preciso del tamaño y la forma de los nanomateriales (Salabat & Mirhoseini, 2018; Salvador et al., 2021).

2.2.2 Ruta verde

También conocida como ruta biológica y se refiere a métodos que buscan minimizar el uso de productos químicos tóxicos y solventes peligrosos, así como reducir el impacto ambiental asociado con la producción de NPs, los cuales se basan en el uso de materias primas naturales, como extractos de plantas,

bacterias u hongos, que actúan como agentes reductores y estabilizadores para la síntesis de estas estructuras. Al aprovechar los compuestos bioactivos presentes en estos materiales, la ruta verde ofrece una alternativa más sostenible y respetuosa con el medio ambiente para la producción de NPs (Malik et al., 2014; Sharma et al., 2019).

Un ejemplo de método en la ruta verde es el uso de extractos de hojas, semillas o frutas, que contienen compuestos fitoquímicos con propiedades reductoras y estabilizadoras, los cuales se utilizan para reducir iones metálicos en solución y formar NPs con una amplia variedad de tamaños y formas. Otro método involucra el uso de microorganismos, como bacterias o hongos, que producen enzimas o metabolitos que se usan para reducir iones metálicos y formar nanopartículas en un proceso que es más sostenible y menos dañino para el medio ambiente en comparación con los métodos convencionales (Ijaz et al., 2020; Ying et al., 2022).

2.2.3 Ruta física

Se denomina también ruta mecánica y se usan procesos físicos, sin la necesidad de reacciones químicas complejas. Uno de los métodos más comunes es la molienda mecánica, donde se aplican fuerzas mecánicas intensas, como la fricción y el impacto, a materiales a granel en presencia de bolas de molienda. Este proceso conduce a la fractura y pulverización de los materiales, produciendo nanomateriales de tamaño estandarizados o normalizados y se utiliza ampliamente para sintetizar NPs, cerámicas y compuestos poliméricos, a partir

de una ruta simple y escalable para la producción de nanopartículas (Ijaz et al., 2020; Tsuzuki, 2020).

Ijaz et al. (2020) mencionan que otro método en la ruta física es la ablación láser, donde se utiliza un láser de alta energía para evaporar y fragmentar materiales en solución, formando NPs suspendidas en un medio líquido. Este enfoque permite una síntesis rápida y precisa de estos nanomateriales metálicos y semiconductores con control sobre el tamaño y la dispersión.

Otros son la deposición de vapor físico (PVD) y la deposición química de vapor físico (CVD), que se emplean para depositar capas delgadas de materiales en sustratos sólidos, que luego pueden ser tratadas para formar NPs mediante técnicas de grabado o agrietamiento controlado (Rafique et al., 2020; Krishnia et al., 2022).

2.3 La síntesis de NPs como proceso ajustable

La síntesis de NPs presenta varios desafíos que deben superarse para controlar con precisión sus propiedades y aplicaciones. Uno de los mayores desafíos es controlar el tamaño y la distribución de tamaño de las NPs sintetizadas, puesto que las condiciones de reacción suelen tener una fuerte influencia en el tamaño final de estas y es importante desarrollar métodos que permitan una síntesis reproducible y escalable con tamaños de partículas bien definidos (De olivera et al., 2020; Tao et al., 2021).

Pan et al. (2020) mencionan que se tiene que atender la estabilidad coloidal de las NPs, es decir, su capacidad para permanecer dispersas en un medio

líquido sin aglomerarse ni sedimentarse, por lo que se deben desarrollar estrategias de estabilización para prevenir la agregación de NPs y mantener la dispersión durante largos períodos de tiempo.

Otro desafío importante es controlar la combinación de las NPs para que desempeñan funciones importantes en su comportamiento y aplicación según sean el interés para el cual se forman, incluida la reactividad química, la capacidad de unirse a moléculas específicas y la interacción con el medio ambiente; por lo que existe la necesidad de desarrollar métodos que permitan modificar selectivamente la superficie para adaptar sus propiedades a aplicaciones específicas (Lv et al., 2019; Baing et al., 2021).

De olivera et al. (2020) señalan la necesidad de establecer métodos precisos de síntesis que conlleven a un control de la morfología y creación de estos materiales y que permitan la combinación de sus propiedades dando paso a compuestos bifuncionales por medio de una aleación entre compuestos metálicos puros, óxidos metálicos, biopolímeros, entre otros; en proporciones predeterminadas y racionales.

Desafortunadamente, concretar este proceso en su totalidad no es efectivo, por las limitantes existentes en los procedimientos y la falta de equipos que permitan perfeccionar un método; motivo por el cual, la mayoría de los estudios de este tipo desarrollan aleaciones, que consisten en la combinación de un material en otro para eficientizar sus propiedades dándole un carácter bimetálico, por ejemplo (Zhao et al., 2018; Lv et al., 2019).

A pesar de los avances, la síntesis de NPs sigue siendo un proceso ajustable debido a la complejidad inherente a la combinación de materiales y condiciones

de reacción. Incluso con técnicas avanzadas, se ha observado una variabilidad del 10-15% en la reproducibilidad de las propiedades a gran escala (Zhao et al., 2018). Estos desafíos no solo reflejan las limitaciones actuales, sino que también impulsan la continua optimización de los métodos, haciendo que la síntesis sea un proceso en constante evolución para mejorar la eficiencia y adaptación a aplicaciones específicas, aunque también introduce desafíos en términos de reproducibilidad para evitar la mayor parte de los desafíos que presentan los métodos convencionales.

2.4 Efecto de las NPs en la promoción de la germinación

Diversos estudios se han enfocado en comprender la utilidad y el funcionamiento de las NPs, ya que ofrecen propiedades únicas que pueden influir en varios aspectos del proceso de germinación, incluida la viabilidad de las semillas, velocidad de germinación, resistencia a enfermedades y desarrollo inicial de las plántulas (Singh et al., 2021).

Un claro ejemplo, es el uso de las NPs de Cu y Zn que interactúan con las plantas a nivel celular y molecular, que abren nuevas oportunidades para optimizar los sistemas de producción agrícola y contribuir a una agricultura más eficiente y sostenible. Sin embargo, es fundamental comprender los mecanismos subyacentes de acción y evaluar los posibles riesgos ambientales y para la salud humana antes de su implementación a gran escala en prácticas agrícolas (Faizan et al., 2021; López-Lima et al., 2021).

2.4.1 Interacción planta-nanopartículas

Las NPs de Zn interactúan con la planta desde el momento en el que hacen contacto con la semilla o en el sistema radicular, puesto que los iones de zinc liberados actúan como cofactores enzimáticos y reguladores de la expresión genética en las células vegetales, y promueven importantes procesos metabólicos durante la germinación, como la síntesis de proteínas y el crecimiento celular, lo que aumenta la tasa, la uniformidad de la emergencia de las plántulas y la calidad de estas (Rai-Kalal & Jajoo, 2021).

Fahmy et al. (2021) mencionan que cuando las NPs de Cu y Zn, entran en contacto con las semillas, estas pueden adherirse a la superficie de la semilla o penetrar la cubierta protectora entrando a la parte interior de la célula vegetal, donde interactúan con diversas estructuras celulares, como membranas celulares y orgánulos, lo que provoca diversas respuestas fisiológicas, permite la permeabilidad de las membranas celulares, facilita la absorción de agua y nutrientes por parte de la semilla, lo que a su vez puede afectar la velocidad y uniformidad de la germinación.

Desafortunadamente, una alta dosis de NPs de Cu puede inducir estrés oxidativo en las células vegetales al producir formas reactivas de oxígeno, que pueden dañar los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos celulares, lo que afecta negativamente la viabilidad de las semillas y reducir las tasas de germinación, pero pueden mejorar la actividad de enzimas antioxidantes en las células vegetales y promover la síntesis de compuestos bioquímicos necesarios para el desarrollo inicial de las plántulas (Naz & Zia, 2020; Ouni et al., 2020).

Por lo tanto, la combinación de NPs de Cu y Zn permite una relación sinérgica para promover un crecimiento vegetal sano y resistente, puesto que proporciona una fuente óptima de micronutrientes esenciales, necesarios para diversos procesos metabólicos y el crecimiento adecuado de las plantas, aunado a un aumento en la actividad enzimática antioxidante y promueve un equilibrio saludable en las células vegetales (Tryfon et al., 2023; Mahawar et al., 2024).

2.5 El efecto antifúngico de las NPs

Las NPs de Cu y Zn poseen propiedades antimicrobianas únicas que pueden inhibir el crecimiento y la proliferación de diversos hongos patógenos; por lo que, son candidatas ideales para el desarrollo de compuestos antifúngicos eficaces debido a su capacidad para interferir con importantes procesos celulares de hongos, como la respiración y la división celular (Cruz-Luna et al., 2021; Tryfon et al., 2022).

Debido a su capacidad para penetrar las células fúngicas, puede aumentar su eficacia en comparación con los fármacos antimicóticos tradicionales, además de poseer mecanismos precisos de acción (Vanti et al., 2020; Kutawa et al., 2021). Algunas de estas capacidades se muestran a continuación.

2.5.1 Interacción planta-hongo-nanopartícula

Cuando las NPs de Cu entran en contacto con hongos patógenos, pueden adherirse a la superficie de las células fúngicas o penetrar la membrana celular; una vez dentro de las células, alteran procesos celulares importantes, como la

respiración y la división celular, al provocar estrés oxidativo y dañar componentes celulares importantes, como proteínas y ácidos nucleicos (Malandrakis et al., 2020).

Este estrés oxidativo puede causar la formación de formas reactivas de oxígeno dentro de las células fúngicas, lo que lleva a la oxidación de biomoléculas y al deterioro de funciones celulares esenciales, y provoca la inhibición del crecimiento y muerte de hongos patógenos (Atiq et al., 2020; López-Lima et al., 2021).

Además, las NPs de Cu pueden alterar la homeostasis iónica de las células fúngicas al cambiar los niveles de iones metálicos intracelulares, lo que puede afectar negativamente la viabilidad y función de las células fúngicas; sin embargo, esta interacción implica muchos mecanismos que pueden conducir a la inhibición del crecimiento y la reproducción de estos microorganismos (Paraguay-Delgado et al., 2022).

En cambio, cuando las NPs de Zn entran en contacto con hongos fitopatógenos, interactúan con la superficie de las células fúngicas y penetran en sus estructuras celulares al inducir la formación de ROS, lo que provoca estrés oxidativo y daña biomoléculas esenciales como proteínas y ácidos nucleicos. Este daño perjudica funciones celulares importantes y, en última instancia, puede provocar la muerte de hongos patógenos (Malandrakis et al., 2022; Tryfon et al., 2022).

Además del estrés oxidativo, González-Merino et al. (2021) mencionan que las NPs de Zn pueden afectar la estructura y función de la membrana celular de hongos patógenos al interactuar con la membrana celular, estas estructuras

pueden alterar su integridad y permeabilidad, lo que provoca la pérdida de la barrera protectora de las células fúngicas y la fuga de componentes celulares esenciales. Esta alteración de la membrana celular puede alterar importantes procesos metabólicos y provocar la desestabilización de las células fúngicas (Dhiman et al., 2022; Daniel et al., 2023).

Las NPs de Zn pueden tener un efecto destructivo sobre las actividades enzimáticas y los procesos metabólicos en las células fúngicas al inhibir el crecimiento y la reproducción de hongos patógenos de plantas al interferir con la actividad de ciertas enzimas involucradas en la respiración, la síntesis de ATP y otros procesos metabólicos de una gran diversidad de hongos fitopatógenos, ya que afectan diversos aspectos de su fisiología y supervivencia (Dhiman et al., 2022; Daniel et al., 2023).

Por lo tanto, una combinación de NPs de Cu y Zn puede permitir un efecto sinérgico entre los dos materiales, lo que resulta en una mayor eficacia antifúngica que cuando se usa cada material individualmente puesto que se ha demostrado que ciertas combinaciones de NPs tienen efectos sinérgicos, siendo el efecto combinado mayor que la suma de los efectos individuales de cada componente, lo que podría mejorar el control de hongos fitopatógenos y reducir la resistencia a los fungicidas (Mohamed et al., 2021; Sardar et al., 2022).

2.6 El interés de la nanotecnología agrícola en el cultivo de tomate

La nanotecnología agrícola tiene especial atención en el cultivo del tomate (*S. lycopersicum*), desde contextos sociales, económicos y productivos debido a su

importancia como cultivo hortícola y fuente de nutrición para millones de personas. Además, es un cultivo de alto valor económico que genera importantes ingresos para los agricultores y las comunidades rurales; mientras que la nanotecnología ofrece soluciones innovadoras para combatir plagas, enfermedades y problemas de su cultivo, como se muestra a continuación.

2.6.1 Importancia económica del cultivo de tomate

En México, el Servicio de Información Agrolimentaria y Pesquera (SIAP), (2023) reportó que el consumo anual per capita es de 14.1 kg y se cultiva en 21 964 ha, tanto en condiciones controladas y de campo, con una producción total registrada en este año de 3.637 millones de t de tomate; con una tasa promedio anual de crecimiento del 5.3% entre 2018 y 2023, para ubicarse en un máximo histórico de 3.7 millones de t a nivel nacional en dicho periodo.

Es por esta razón, que se considera a la hortaliza de gran importancia en la alimentación y la economía nacional (Panno et al., 2021; SIAP, 2023); sin embargo, su producción requiere de una absoluta dependencia a los agroquímicos convencionales de origen sintético e inorgánicos (Salama et al., 2021; Vaidya et al., 2024).

Desde el punto de vista agronómico, para Olivares et al. (2020) el tomate es un cultivo que se caracteriza por su baja capacidad para adaptarse a diferentes condiciones climáticas y sistemas de cultivo, lo que limita su cultivo en una amplia gama de ambientes, desde campos abiertos hasta invernaderos. Sin embargo, esto representan grandes desafíos agrícolas puesto que es susceptible a plagas y enfermedades, así como a los factores estresantes ambientales como sequía y

salinidad del suelo, lo que puede reducir significativamente el rendimiento (Da Silva et al., 2022; Cotrina et al., 2023).

2.6.2 Retos de la germinación y el establecimiento del cultivo

"La germinación de las semillas es uno de los principales retos para el establecimiento del cultivo de tomate, ya que factores como la viabilidad de las semillas, la pureza genética, la salinidad y acidez del suelo, y la presencia de enfermedades, así como contaminantes pueden reducir la tasa de germinación hasta un 60%. Esto contrasta con las semillas certificadas, que en condiciones óptimas pueden tener una tasa de germinación superior al 90% (Taylor, 2020; Reed et al., 2022).

Otro desafío importante a considerar es el manejo de las condiciones ambientales para su óptima germinación, ya que las semillas de tomate requieren condiciones específicas de temperatura, humedad y luz; las temperaturas extremas, pueden inhibir la germinación o debilitar las plántulas. Además, un exceso de humedad del sustrato, puede causar problemas de pudrición y su déficit puede impedir que las semillas absorban la humedad que necesitan para la germinación (Cammarano et al., 2020; Ro et al., 2021).

Es aquí donde las NPs pueden desempeñar un papel importante para superar los desafíos asociados con la germinación, porque ayudan a mejorar la calidad y la supervivencia de las semillas, al emplearse como recubrimientos de las semillas para controlar la liberación de nutrientes esenciales y estimulantes, lo que favorece una germinación uniforme y vigorosa. Además, mejoran la retención

de humedad y la resistencia a las influencias ambientales, lo que resulta en un ambiente más favorable para la germinación (Zhao et al., 2021; Salih et al., 2022).

2.6.3 Desafíos en el manejo de la marchitez del tomate por FOL

Para Nikitin et al. (2023) uno de los principales desafíos es la supervivencia prolongada de las esporas de FOL en el suelo, incluso en ausencia de plantas hospedantes, ya que sobreviven durante varios años, lo que dificulta su erradicación. El problema por la infección de este patógeno en las plantas se genera durante varias temporadas e impide de forma paulatina la rotación de cultivos, lo que no garantiza la resistencia de esto frente a este fitopatógeno.

Esta especie de *Fusarium* puede adaptarse y superar la resistencia genética en las plantas de tomate a pesar de que se han desarrollado variedades resistentes a ciertas razas de FOL; este puede evolucionar para crear nuevas especies que evadan estas resistencias, por lo que la dinámica genética de este fitopatógeno es difícil de contener (Perincherry et al., 2021; Lal et al., 2024).

Depender únicamente de la resistencia genética no es sostenible a largo plazo, debido a la evolución de este tipo de hongo, lo que impide la resistencia de las variedades de tomate a este patógeno. Ante esta situación, las NPs pueden proporcionar soluciones innovadoras a estos desafíos; ya que poseen propiedades antimicrobianas, como la plata o el cobre, que se pueden utilizar en tratamientos de suelos y semillas para reducir la carga de esporas de FOL viables en el cultivo. A su vez estas pueden desinfectar los suelos de forma eficaz y respetuosa con el medio ambiente que los fungicidas tradicionales (Ashraf et al., 2021; VS et al., 2024).

Es posible diseñar NPs para liberar ingredientes activos de una manera controlada que mejore la resistencia de las plantas y su capacidad para responder a las infecciones; esto implica la liberación de inductores de resistencia sistémica que preparan a la planta para defenderse contra la invasión de patógenos. La integración de estas tecnologías basadas en NPs en enfoques integrados de gestión de enfermedades puede proporcionar una protección más eficaz y largo plazo contra la FOL (González-Merino et al., 2021; Wang et al., 2022).

CAPÍTULO III

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE Cu-Zn Y SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Resumen: Las nanopartículas de Cu-Zn son una opción para solucionar problemas que se presentan en la germinación de semillas de tomate, al ser promotoras de dicho proceso por su dinamismo y sinergia; sin embargo, son pocos los estudios que proponen un método para la síntesis de dicho material. La investigación se realizó en el 2024 en el ITVE con el objetivo de sintetizar aleaciones de estos elementos bajo las siguientes combinaciones: Cu_{25%}-Zn_{75%}; Cu_{50%}-Zn_{50%} y Cu_{75%}-Zn_{25%} así como su efecto en la germinación de las semillas de tomate. Las NPs se sometieron a un análisis EDS para comprobar su proporción, así como una prueba de SEM para determinar su forma y tamaño. La combinación de Cu_{25%}-Zn_{75%}, reportó una forma de ojiva y tamaño de 44.5±14.20 nm; mientras que para las combinaciones de Cu_{50%}-Zn_{50%} y Cu_{75%}-Zn_{25%} estas presentaron forma semiesférica y tamaños de 64.32±14.72 y 86.75±8.46 nm, respectivamente. Se realizaron análisis XRD, donde se identificaron varias fases cristalinas como el CuO y Cu₂O con respecto al Cu, así como ZnO en el caso del Zn; ambos elementos presentes en cada una de las aleaciones, pero que no afectó la proporción real con respecto a la proporción aparente reportada en la cuantificación del análisis EDS. Posteriormente, se evaluó el efecto de estas estructuras en la germinación de semillas de tomate var. Moctezuma F1 a diferentes concentraciones, 50, 100, 150 y 200 mg L⁻¹ y un tratamiento testigo a base de agua desionizada; donde el tratamiento de Cu_{75%}-Zn_{25%} a una concentración de 50 mg L⁻¹, presentó un porcentaje de germinación del 95% y un tiempo de germinación de 7 días con un alto índice de vigorosidad; siendo superior a los demás tratamientos evaluados, según Tukey ($p \leq 0.05$); asimismo un análisis de covarianza descartó una relación significativa entre el tamaño de las nanopartículas y las variables evaluadas. Estos resultados sugieren que este tratamiento es una opción favorable para garantizar la germinación de las semillas gracias a la sinergia generada por la interacción de las proporciones del Cu-Zn presente en la aleación.

Palabras clave: Aleación, Bimetálicas, Estimulantes de la germinación, Nanomateriales.

Abstract. Cu-Zn nanoparticles are an option to solve problems that arise in the germination of tomato seeds, being promoters of this process due to their dynamism and synergy; however, there are few studies that propose a method for the synthesis of this material. The research was carried out in 2024 at ITVE with the objective of synthesizing alloys of these elements under the following combinations: Cu_{25%}-Zn_{75%}; Cu_{50%}-Zn_{50%} and Cu_{75%}-Zn_{25%} as well as their effect on tomato seed germination. The NPs were subjected to EDS analysis to check their ratio as well as SEM test to determine their shape and size. The Cu_{25%}-Zn_{75%} combination, reported an ogive shape and size of 44.5±14.20 nm; while for the Cu_{50%}-Zn_{50%} and Cu_{75%}-Zn_{25%} combinations these presented hemispherical shape and sizes of 64.32±14.72 and 86.75±8.46 nm, respectively. XRD analysis was performed, where several crystalline phases were identified, such as CuO and Cu₂O with respect to Cu, as well as ZnO in the case of Zn; both elements present in each of the alloys, but which did not affect the real proportion with respect to the apparent proportion reported in the EDS analysis quantification. Subsequently, the effect of these structures on the germination of tomato seeds var. Montezuma F1 at different concentrations, 50, 100, 150 and 200 mg L⁻¹ and a control treatment based on deionized water was evaluated; where the Cu_{75%}-Zn_{25%} treatment at a concentration of 50 mg L⁻¹, presented a germination percentage of 95% and a germination time of 7 days with a high vigorousness index; being superior to the other evaluated treatments, according to Tukey ($p \leq 0.05$); likewise an analysis of covariance ruled out a significant relationship between the size of the nanoparticles and the variables evaluated. These results suggest that this treatment is a favorable option to guarantee seed germination thanks to the synergy generated by the interaction of the proportions of Cu-Zn present in the alloy.

Keywords: Alloy, Bimetallic, Germination stimulants, Nanomaterials.

3.1 Introducción

Las nanopartículas (NPs) son partículas en dispersión cuyo tamaño oscila entre 1-100 nm y se derivan principalmente de metales, óxidos metálicos, biopolímeros, entre otros compuestos. Son aplicables en distintas áreas, principalmente en la agricultura, al ser excelentes promotoras de la germinación de semillas. Los materiales a partir de los cuales se sintetizan son el Zinc (Zn) y el cobre (Cu), empleados en el recubrimiento de semillas para su protección contra enfermedades y en la nutrición a partir de una liberación gradual y controlada de los nutrientes [1-2].

La importancia de estos materiales radica en que también son micronutrientes vitales en todas las plantas; el Zn participa en la síntesis de proteínas, clorofila y enzimas; y es parte de numerosos procesos celulares y responsable en la síntesis de fitohormonas como auxinas, citoquininas, giberelinas, etileno y ácido abscísico [3-4]. El Cu es un micronutriente que interviene en diversos procesos fisiológicos como la fotosíntesis, síntesis de clorofila y respiración celular [5-6]. Es esencial para activar las enzimas involucradas en la síntesis de lignina, componente estructural en las paredes celulares que proporciona a las plantas soporte y resistencia a factores ambientales y patógenos [7], pero debe mantenerse en niveles suficientes, ya que puede ser tóxico para las plantas [8-9].

Algunos estudios reportan que la combinación de Zn con el Cu podría ayudar a mejorar las propiedades de estos materiales haciéndolos bifuncionales, y mejorar su capacidad como estimulante de la germinación en las semillas de tomate y garantizar un suministro gradual de nutrientes [7-8]. Sin embargo, existen limitantes que impiden la combinación de estos elementos de forma eficiente y que aprovechen las propiedades de estos elementos, ya que se requiere modificar ciertos métodos como la pirolisis, método sol-gel, hidrotérmico y precipitación, siendo este último es el más utilizado por su grado de adaptación, y que consiste en la transformación de los precursores metálicos en un medio acuoso para obtener nanopulvos con morfología definida,

tamaño y distribución controlada; además de obtener una producción a mayor escala mediante la liberación de cationes controlada a partir de una suspensión homogénea, dando paso a la formación de aleaciones bimetálicas [9-10].

La síntesis de NPs de Cu-Zn a base de aleaciones, principalmente por metales, consiste en la modificación de las propiedades estructurales del Zn a través de la incrustación de fragmentos nanométricos de Cu para que desarrollen las propiedades de interés [11-12]. Se pretende desarrollar este nanomaterial y que posea un efecto estimulante significativo respecto a los reportados de cada elemento de forma pura o monometálica [13-14]. Sin embargo, existen limitantes en el desarrollo de estos nanomateriales basados en la aleación de estas NPs; y es la estandarización de la morfología de este material, el cual tiende a ser muy disperso, derivado de la variación en la reducción de las dosis de cada agente precursor, así como el agente reductor, lo que dificulta en muchas ocasiones la creación de materiales combinados [15-16].

En tanto la creación de un material basado en una combinación de Cu-Zn representaría un avance significativo en la creación de sustancias estimulantes que aceleren la germinación de semillas, con calidad y fácil adaptación de las plántulas, caso del tomate, cultivo hortícola importante en el mundo por su demanda y valor económico; y que, por el abuso de la fertilización química y cambio climático, compromete el desarrollo de las plantas en ambientes controlados y no controlados [17].

La combinación de Cu y Zn puede proporcionar beneficios sinérgicos que potencian los efectos positivos de ambos elementos en la germinación de las semillas de tomate. Estas aleaciones pueden liberar gradualmente los nutrientes en el entorno inmediato de la semilla, optimizando su disponibilidad y absorción [18-19]. Además, al influir en la fisiología de las semillas y plántulas, las aleaciones de Cu y Zn por la sinergia de estos elementos, pueden optimizar los procesos fisiológicos fundamentales durante la germinación y el crecimiento inicial de las plántulas de tomate, lo que garantiza un óptimo desarrollo [20-21].

Sin embargo, los estudios se han desarrollado de forma monometálica o con adición de otros óxidos metálicos o biopolímeros sin una estandarización de síntesis que permita la homogeneidad en tamaño y forma [22-23]. Por esta razón, el objetivo de la investigación fue sintetizar NPs de Cu-Zn bajo proporciones preestablecidas mediante un procedimiento de ruta química adaptado con el uso de un agente reductor para su estandarización y evaluar su efecto en la germinación de semillas de tomate bajo condiciones controladas.

3.2 Materiales y método

La presente investigación se realizó en dos etapas; la primera relacionada con el proceso de síntesis de las NPs de Cu-Zn; la segunda corresponde a la evaluación de su efecto en la germinación de semillas de tomate.

3.2.1 Etapa I. Síntesis de nanopartículas de Cu-Zn

Esta etapa se desarrolló en el Laboratorio de Materiales Avanzados del Instituto Tecnológico del Valle de Etla (ITVE), México. Se utilizaron los siguientes compuestos de grado reactivo provenientes de la marca Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, USA): Sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ACS reagent, $\geq 98.0\%$), acetato de zinc dihidratado ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ACS reagent, $\geq 98\%$), NaOH (ACS reagent, $\geq 95\%$) y un agente reductor a base de borohidruro de sodio (NaBH_4 , powder, $\geq 98.0\%$) así como agua desionizada (dH_2O) grado reactivo marca Fermont® (Monterrey, Nuevo León, México). (ACS reagent, $\geq 99.0\%$).

El proceso se realizó mediante una ruta química con un procedimiento modificado mediante la precipitación propuesto por [24] para obtener las aleaciones bajo proporciones preestablecidas,

donde se partió de una concentración molar de 0.5 M en ambos compuestos precursores $\text{CuSO}_4+5\text{H}_2\text{O}$ y $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}+2\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 50 mL de dH_2O cada uno (cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Combinaciones molares empleadas de NPs en la síntesis

Aleación	$\text{CuSO}_4+5\text{H}_2\text{O}$		$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}+2\text{H}_2\text{O}$	
	Proporción (%)	Molaridad (mol L^{-1})	Proporción (%)	Molaridad (mol L^{-1})
Cu _{75%} -Zn _{25%}	75	0.375	25	0.125
Cu _{50%} -Zn _{50%}	50	0.25	50	0.25
Cu _{25%} -Zn _{75%}	25	0.125	75	0.375

A su vez, estas se apegaron al modelo: $\text{Cu}_n\text{-ZnO}_{100\%-n}$; donde n representa el porcentaje deseado de un total de molaridad (0.5 M de cada agente precursor, es decir el 100%) al cual se le restaron valores de 25 hasta lograr la combinación deseada con respecto al porcentaje; en la búsqueda de la sinergia en estado equilibrado de estos dos elementos, a partir del supuesto de que su interacción en partes iguales permite un mayor dinamismo y mecanismo de absorción de estos [23].

En primer lugar, se prepararon las concentraciones propuestas del $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}+2\text{H}_2\text{O}$ (cuadro 3.1) en 25 mL de dH_2O ; mismas que fueron disueltas por separado en una solución de NaOH al 0.1 M en un volumen de 20 mL para una reducción previa mediante agitación constante a 300 rpm y una temperatura aproximada de 80° C, en una parrilla modelo H280 Pro. A continuación, se añadieron de forma coordinada de acuerdo a las combinaciones propuestas para cada una de las soluciones molares de $\text{CuSO}_4+5\text{H}_2\text{O}$ en un volumen de 25 mL con el uso de dH_2O ; acorde al método coprecipitación con base a lo propuesto en el cuadro 3.1. Se le adicionó la solución acuosa del agente químico reductor NaBH_4 al 0.1 M disuelta en 30 mL de dH_2O a cada una de las soluciones; añadida de forma paulatina bajo las mismas condiciones de agitación y temperatura por 2 h. Posteriormente, las muestras se centrifugaron por 20 min a 1200 rpm en una centrifugadora semiautomática modelo C-40 para finalmente secarlas en un horno de secado modelo H-62 a 125° C por 60 min cada tratamiento. Adicionalmente se sintetizaron de forma paralela los agentes precursores en su concentración total; es decir 0.5 M con el procedimiento antes mencionado.

3.2.1.1 Técnicas para la caracterización

Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de Microscopía Electrónica del Instituto Tecnológico de Oaxaca (ITO), México; donde una pequeña muestra de cada una de las aleaciones de NPs se sometió a un proceso de caracterización fisicoquímica a través de un análisis de dispersión de energía de rayos X (EDS) en un espectro modelo EO9, para conocer la composición elemental de estas partículas en sus estructuras y que de acuerdo con [24], este proceso permite determinar la proporción de cada elemento conforme la fórmula antes mencionada, misma que corresponde al porcentaje asignado de cada material. Se realizaron cinco análisis EDS para calcular la proporción real (Pr) y relacionar con la proporción aparente (Pa), mediante una base de datos previamente cargada por la marca Thermo Fisher Scientific®.

Además, se realizaron entre 20 y 25 mediciones del tamaño por muestra con ayuda de la herramienta *ruler* del propio microscopio, con una magnificación de 50 000 x y una energía dispersiva estándar de 10 (keV). Así como un estudio de difracción de rayos X (XRD) para determinar la fase del material y que de acuerdo con [24, 25] ayuda a determinar la fase estructural identificando los elementos presentes en dicha muestra. De igual manera, con base en lo planteado

por [23-24] se realizó un análisis de microscopia electrónica de barrido (SEM) en un lente de difracción anexo al microscopio modelo G2-pure para conocer la forma (Fr) de acuerdo con el aspecto que presentó y el tamaño (Tm) expresado en nanómetros (nm) de cada tratamiento que se sintetizó bajo la ruta antes mencionada.

3.2.2 Etapa II. Evaluación del efecto germinativo en semillas de tomate

Esta etapa se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto Tecnológico del Valle de Etla (ITVE), México. Se utilizaron semillas de tomate var. Moctezuma F1 marca Harris Morgan® (Madrid, España), papel filtro Whatmanns® No. 1 de 50 mm de diámetro, dH₂O grado reactivo marca Fermont® y cajas de Petri desechables con dimensiones de 50x10 mm. Las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO₂) al 10% acorde a lo propuesto por [24, 26] en un volumen de 200 mL de agua destilada y se lavaron de 3 a 5 veces con la misma agua hasta retirar los residuos de la solución empleada; esto con la finalidad de retirar la película protectora antifúngica que las semillas traen como medio de prevención durante el proceso de germinación, lo que previene la influencia de factores externos al uso de NPs.

Para la germinación de semillas se empleó como sustrato papel filtro como sustrato dispuesto en cajas de Petri con dimensiones de 50x10 mm. Para la preparación de las soluciones con las nanopartículas descritas en el cuadro 3.1, se empleó por solución 100 mL de dH₂O, sonicando a una frecuencia constante de 40 kHz a temperatura ambiente (25±2° C) en un sonicador modelo B01HGN40SQ, por un ciclo de 10 min para homogeneizar y dispersar en la solución [29]. Cada tratamiento se dejó reposar en condiciones de temperatura ambiente para lograr una mayor dispersión en el medio. Finalmente se colocaron en una cámara de flujo laminar modelo EOS-CV-1, previamente desinfectada para realizar la siembra, se sellaron las cajas y se colocaron durante 7 días en una cámara de germinación a condiciones normales (25° C de temperatura y humedad relativa del 50%) según lo reportado por [25, 27].

3.2.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), en el cuadro 3.2 se muestran los tratamientos generados.

Cuadro 3.2. Tratamientos a evaluar

Tratamiento	Concentración (mg L ⁻¹)			
	1	2	3	4
Cu	50	100	150	200
Zn	50	100	150	200
Cu _{75%} -Zn _{25%}	50	100	150	200
Cu _{50%} -Zn _{50%}	50	100	150	200
Cu _{25%} -Zn _{75%}	50	100	150	200
Testigo (dH ₂ O)	---	---	---	---

Las variables evaluadas en esta etapa fueron divididas en dos grupos: uno que corresponde a las variables relacionadas a la germinación, en donde se consideró como unidad experimental a la caja de Petri, con 4 repeticiones cada tratamiento, para un total de 84 cajas; mientras que en el segundo grupo se encuentran las variables morfológicas, donde se utilizó como unidad experimental la plántula de tomate para un total de 12 unidades experimentales por caja.

3.2.4 Variables a evaluar

Las variables referentes a la germinación (de la 1 a la 5) y morfométricas (de la 6 a la 11) evaluadas, se muestrana continuación:

1. Porcentaje de germinación (Pg, %). Fue calculado acuerdo a la fórmula propuesta por [27].

$$Pg, \% : \left(\frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Total de semillas}} \right) * 100$$

2. Tiempo de germinación (Tg, días). Se usó la fórmula de [26-27]:

$$Tg (d) : \frac{\sum N * t}{\sum N}$$

Donde N es el total de semillas germinadas en el momento, t y d es el número de días transcurridos desde la siembra.

3. Índice de germinación (Ig, %). Empleando la fórmula propuesta por [26,28]:

$$Ig (\%/día) : \sum Nt / Dt$$

Donde Nt es el porcentaje de germinación de cada día y Dt representa el total de los días de germinación. Este valor de Ig refleja el porcentaje de germinación en cada periodo de germinación.

4. Coeficiente de velocidad de germinación (CVG). Este valor es una indicación de la rapidez de la germinación, se calculó de acuerdo con la fórmula propuesta por [26, 29].

$$CVG (\%, dia) = \sum Nt \sum Nt \times t / 100$$

5. Índice de vigor (Iv). Se calculó mediante la fórmula propuesta por [30]. Para calcular la longitud de la plántula, se eligieron las plántulas representativas de cada tratamiento [26,30].

$$Iv = \text{Porcentaje de Germinacion (PE)} \times \text{media de la longitud de la plantula (raíz + brote)}$$

Al final del estudio y al pesar el peso fresco de las plántulas, las placas con plántulas se introdujeron en una estufa a 60° C durante 48 h. A continuación, se determinó el peso seco de los brotes.

6. Longitud del brote (Lb, mm). Usando un vernier digital modelo HER-411 midiendo desde la base del cuello hasta el brote de las hojas verdaderas.
7. Peso fresco del brote (Pfb, mg). Se dividió el brote desde la base con ayuda de una hoja de bisturí, el brote y se pesó inmediatamente después del corte en una balanza analítica modelo VE-5003.
8. Peso seco del brote (Psb, mg). Posterior al corte de esta estructura, se sometió a un proceso de deshidratación en un horno de secado modelo H-62 por 65° C por 48 h en una bolsa de papel craft. Se peso en balanza analítica modelo VE-5003. y se registró su peso.

9. Longitud de la raíz (Lr, mm). Similar a la medición del brote, con ayuda de un vernier modelo HER-411 y se midió desde la base del tallo hasta la punta de la raíz principal.
10. Peso fresco de la raíz (Pfr, mg). Se lavaron las raíces con agua para eliminar los residuos, y se pesaron en una báscula marca modelo VE-5003.
11. Peso seco de la raíz (Psr, mg). Las raíces se colocaron en una bolsa de papal y se secaron en un horno modelo H-62 a 65° C por 48 h hasta obtener peso constante. Finalmente se pesaron en una balanza analítica modelo VE-5003.

3.2.5 Análisis de datos

Se consideraron las variables correspondientes a la etapa I referente a la síntesis (Pa, Pr y Tm), realizando solo un análisis descriptivo, representando entre ellas las medias \pm error estándar excepto para la variable Fr. En el caso las variables propuestas referentes a la germinación (Pg, Tg, Iv, Ig y CVG) así como las morfométricas (Lb, Pfb, Psb, Lr, Pfr y Psr) pertenecientes a la etapa II, se sometieron a una prueba de normalidad, donde ninguna variable tuvo la necesidad de ser transformada. Además, se realizaron análisis de homogeneidad de varianzas y un análisis de varianza (ANOVA) así como una prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), solo para las variables de la etapa II, donde los resultados se expresaron en medias \pm error estándar. Adicionalmente se realizó un análisis de covarianza considerando al tamaño de las NPs como covariable, en relación con las variables germinativas y morfométricas propuestas y evaluadas para separar el efecto verdadero de tratamientos. Estos análisis se realizaron empleando el paquete estadístico de R Studio versión 4.3.9.

3.3 Resultados y discusión

Los resultados se presentan por etapas, la primera que corresponde al producto de la síntesis y caracterización de las NPs y la segunda a la evaluación del efecto germinativo en las semillas de tomate.

3.3.1 Caracterización del material sintetizado

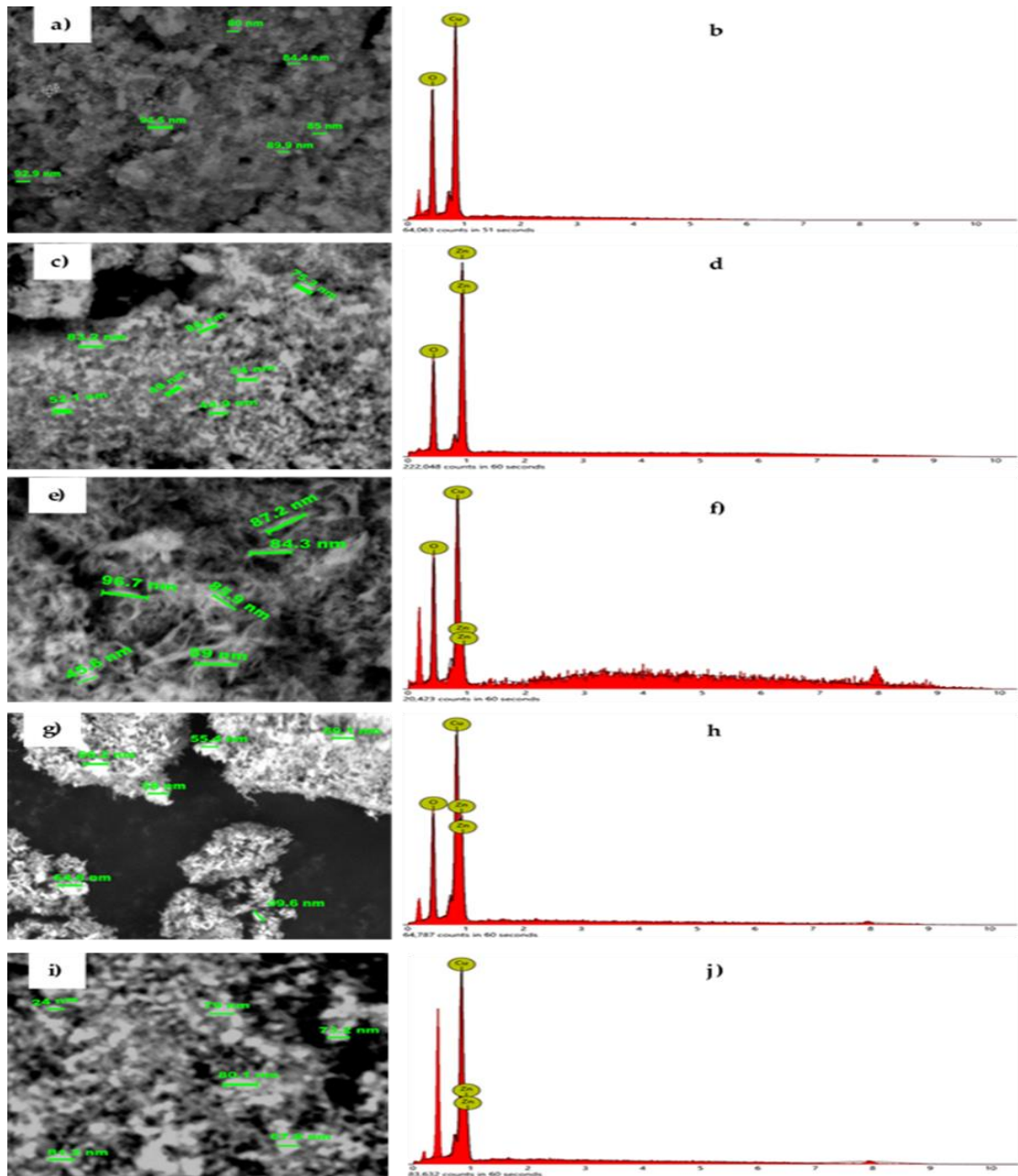
1. Análisis elemental por EDS de las NPs sintetizadas. Las aleaciones a base de Cu-Zn en las proporciones antes mencionadas, se sometieron a un estudio de SEM, así como un análisis EDS. Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 3.3 y se corroboran en la figura 3.1.

Cuadro 3.3. Resultados del análisis estructural y elemental de las NPs de Cu-Zn bajo diferentes concentraciones

Nanopartícula	Cu		Zn		Tm (nm)	Fr aproximada*
	Pa (%)	Pr (%)	Pa (%)	Pr (%)		
Cu	100	99.8 \pm 0.12	---	---	97.75 \pm 16.72	Esférica
Zn	---	---	100	99.96 \pm 0.14	96 \pm 15.56	Esférica
Cu _{25%} -Zn _{75%}	25	25.15 \pm 0.63	75	74.84 \pm 0.63	44.5 \pm 14.20	Ojivas
Cu _{50%} -Zn _{50%}	50	49.32 \pm 1.30	50	50.67 \pm 1.30	64.32 \pm 14.72	Semiesférica
Cu _{75%} -Zn _{25%}	75	75.93 \pm 0.45	25	24.06 \pm 0.45	86.75 \pm 8.46	Semiesférica

*Basados en la interpretación visual obtenida por el SEM. Pa: Proporción aparente; Pr: Proporción real. Los datos de Pa, Pr y Tm se presentan con su media \pm Error estándar.

En el cuadro 3.3, se muestra que no existen variaciones significativas entre los valores de Pa y Pr, lo que no es indicativo de una malformación del material ni de la calidad del mismo, donde [26, 28] señalan que este proceso de síntesis permite una combinación de materiales en Pr similares a la Pa definidas, lo que permite la máxima incorporación de estos elementos gracias a la reducción química, además de que ambos compuestos como el Cu y Zn al ser compatibles entre sí, lo que permite una combinación balanceada según los criterios establecidos por medio de las soluciones precursores establecidas. En la figura 3.1 se presentan los análisis EDS del material sintetizado.



Micrografía de la forma y tamaño de las NPs por SEM: a) Cu; c) Zn; e) Cu_{25%}-Zn_{75%}; g) Cu_{50%}-Zn 50%; i) Cu_{75%}-Zn_{25%}. Espectros EDS de las NPs: b) Cu; d) Zn; f) Cu_{25%}-Zn 75%; h) Cu_{50%}-Zn 50%; j) Cu_{75%}-Zn_{25%}.

Figura 3.1. Caracterización fisicoquímica de las NPs de Cu-Zn sintetizadas

Los análisis EDS demostraron en cada una de las composiciones de estas aleaciones muestran la presencia mayoritaria del elemento en mayor proporción (ya sea el Cu o el Zn), que es indicativo de una correcta combinación de la aleación, que está representado de forma gráfica (figura 3.1), donde el pico más alto señalado en cada gráfico del EDS de acuerdo con [29] señala el elemento que se encuentra en mayor proporción, lo que reafirma el postulado anterior; mientras que los elementos secundarios (que son los que se encuentran en menor porción) se encuentran entre la línea media y baja de cada espectro.

Los resultados obtenidos por medio del análisis de SEM mostraron una forma esférica de las NPs en estado puro o monometálico, caso del Cu y del Zn, mientras que las formas cambiaron en estas aleaciones, principalmente para la combinación de Cu_{25%}-Zn_{75%} donde la forma reportada es en ojiva, siendo diferente a las demás composiciones. Esto sucede acorde a [21, 24], quienes indican que es producto del proceso de síntesis, donde la liberación de iones procedente de los agentes precursores no fue la suficiente para producir formas más regulares, a pesar de usar concentraciones previamente estandarizadas; además de la influencia de los cambios de temperatura y presión, que influyen en la formación de dichas estructuras, puesto que una variación constante de estos valores en la síntesis está relacionada a la formación de estructuras aplanadas e irregulares.

La razón por la cual se presentó este fenómeno no necesariamente se refiere a un problema en el proceso de síntesis, más bien indica que al momento de presentarse la reacción de reducción de dichos compuestos precursores donde el Zn, que es un material blando frente al Cu, que es duro, la liberación de electrones no fue lo suficientemente eficiente por el proceso de colisión de dichos agentes; es decir, se requiere probablemente una dosis menos cargada del agente reductor para lograr una regularización en cuanto a la forma, ya que según [24, 30] los materiales con dureza como el Zn bajo este método de síntesis no permite una mayor incrustación de las imperfecciones del material de interés como el Cu, lo que genera formas irregulares en dichas estructuras pero que no alteran su funcionalidad.

La forma semiesférica de las NPs combinadas, es producto de un proceso de síntesis variante que, aunque no fue notorio, no logró estandarizar la forma de estos materiales. Sin embargo, es importante recalcar que, aunque no se logró estandarizar la forma en los casos antes mencionados, existe una variación entre los tamaños que reportan un valor menor al de los compuestos monometálicos, es decir, que la concentración del agente surfactante y reductor fue la ideal para producir esta reducción a pesar de combinar dos agentes precursores lo que reafirma la sinergia del Zn y Cu reportada por [31-32] para producir compuestos bifuncionales; ya que un menor tamaño de NPs en muchos de los casos es sinónimo de alta eficiencia.

En contraste, a pesar de estas limitantes, el proceso de síntesis antes descrito permitió una combinación de ambos agentes precursores de forma regular y no dispersar a pesar de tener problemas con la forma, puesto que, aunque no se aprecie de forma visual la combinación de dichos agentes, estos resultados señalan que fue exacta, derivado de que el escáner EDS es capaz de identificar los nanopulvos presentes dentro y fuera del material. Al respecto [31, 33] comentan que, en muchos casos, existen pequeñas estructuras de un material combinante en la superficie que no necesariamente está adherido de forma concreta en su estructura interna pero que no compromete la funcionalidad del compuesto.

2. Análisis espectral por XRD del material sintetizado. En la figura 3.2 se muestran los análisis espectrales correspondientes a las NPs en aleación, donde se puede observar una mezcla de patrones que, con base en este análisis, los compuestos de Cu-Zn en aleación son productos óxidos mientras que la única excepción es el estado puro o monometálico del Cu, ya que se presentan diferentes fases de materiales (figura 3.2 a) como el cobre metálico (Cu) con base en la JCPDS No:

04-0836, óxido de cobre (CuO) con fundamento en la carta JCPDS NO: 48-1548 y óxido cuproso (Cu₂O) según la JCPDS NO: 78-2076: siendo un compuesto multifacético, gracias a las condiciones de síntesis y la naturaleza reactiva del Cu en diferentes estados de oxidación puesto que, aunque el NaBH₄, actúa como el agente reductor, logra en su totalidad la reducción del Cu a su forma metálica, la exposición al ambiente acuoso y la interacción con oxígeno disuelto conducen a la oxidación parcial del Cu, formando Cu₂O y CuO, donde [34, 35] señalan que también influyen también las condiciones de pH y temperatura durante la síntesis, la cual no es estable al tratarse de un medio acuoso y reacciones de óxido-reducción.

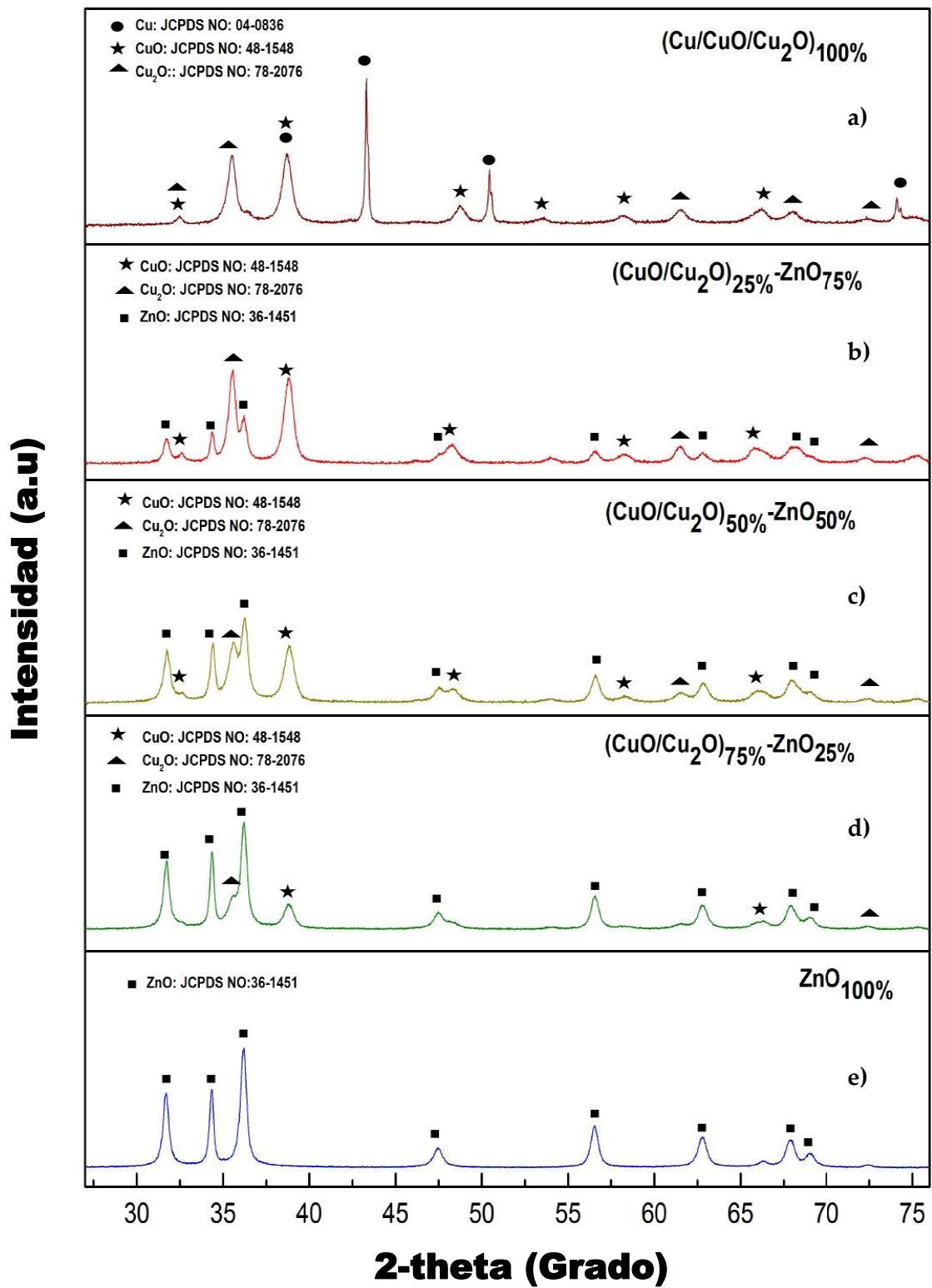
Esto indica que la presencia simultánea de Cu, Cu₂O y CuO producto de una cinética de reacción según [30], que no permite una reducción completa o una oxidación homogénea del Cu. Durante la síntesis, las variaciones locales en el pH o la concentración de los reactivos pueden causar la formación de diferentes fases de óxidos de Cu, puesto que, al usar NaOH, como lo reportan [33, 36] se generen condiciones altamente alcalinas que favorecen la formación de Cu₂O. Por lo que las diferentes fases de Cu detectadas en el XRD reflejan las complejas interacciones químicas y termodinámicas que ocurren durante la síntesis y el procesamiento de los nanomateriales de Cu en medios acuosos; lo que de acuerdo con [36] se mejoran las propiedades catalíticas y pro germinativas del material.

En la figuras 3.2 b, c y d se muestra que en estas combinaciones se denota la presencia de estas mismas fases del Cu (CuO y Cu₂O) en combinación con el ZnO según lo relacionado con las cartas JCPDS NO: 36-1451 y las cartas correspondientes a estas fases cristalinas del Cu relacionadas con anterioridad que presentan diversos estados de oxidación; esto es indicativo de que coexisten en la misma nanopartícula, puesto que no presentan una única fase estable y al añadir el ZnO, este influye en la estructura y estabilidad de las fases de Cu, promoviendo la formación de una mezcla de CuO y Cu₂O; lo que de acuerdo con [29, 32] la combinación de estos óxidos en una nanopartícula puede ser consecuencia de la afinidad química entre el Cu y el Zn, así como de las condiciones de reacción, como la temperatura, el pH y la concentración de reactivos.

En la figura 3.2 se muestra la presencia de los patrones del Zn, lo que indica la presencia de este elemento en su forma oxidada más común (ZnO) según la carta JCPDS NO: 36-1451 y como lo señala [29], este compuesto se encuentra interactuando en las aleaciones propuestas de estos materiales, mismo que se utilizó como referencia e identificador de estos patrones en las muestras análisis como medio de verificación del método de síntesis, además de que este elemento al igual que los anteriores presentan estructura cristalina.

Este análisis XRD muestra la interacción de estos nanocompuestos en la formación de un material altamente eficiente, puesto que según [30, 32] es fundamental para correlacionar la estructura cristalina con las propiedades físicas, químicas y funcionales de las NPs, como su actividad catalítica, estabilidad, o capacidad de promover la germinación de plantas. Además, el XRD revela la interacción entre diferentes fases dentro de una nanopartícula, lo cual es clave para optimizar su diseño y rendimiento en aplicaciones específicas.

Sin embargo, la presencia de diferentes fases cristalinas del Cu, no es un efecto negativo sino un producto de la variabilidad del método de síntesis por lo que se considera a manera de referencia el uso del Cu en estado puro para distinguir las aleaciones, puesto que según [31] es indicativo que permite evaluar la pureza y funcionalidad del compuesto al mejor de forma considerables sus propiedades, mismas que no repercuten en su funcionamiento sino que permiten una mayo efectividad al momento de su aplicación. En contraste, este estudio releva de forma precisa la composición elemental del material sintetizado que sostiene los resultados señalados en el EDS, dando la pauta para establecer de forma específica las aplicaciones de estos, como es en la promoción de la germinación de semillas de tomate, puesto que se trata de elementos que han demostrado tener propiedades estimulantes en dicho fenómeno, al ser sinérgicos y catalíticos.



Espectros XRD con patrones relacionadas: a) Cu; b) Zn; c) $\text{Cu}_{25\%}\text{-Zn}_{75\%}$; d) $\text{Cu}_{50\%}\text{-Zn}_{50\%}$; e) $\text{Cu}_{75\%}\text{-Zn}_{25\%}$

Figura 3.2. Análisis estructural XRD del material sintetizado

3.3.2 Evaluación del efecto germinativo

El efecto de la exposición de las NPs con las semillas de tomate con los diferentes tratamientos probados, tuvieron diferencias significativas entre ellos en cuanto Pg e Iv, donde destacó el tratamiento de Cu_{75%}-Zn_{25%}; a una concentración de 50 mg L⁻¹; a diferencia del mismo tratamiento, pero con una concentración de 100 mg L⁻¹ (cuadro 3.4).

Cuadro 3.4. Comparación de medias sobre las variables estimables en el proceso de germinación de semillas de tomate por acción de las NPs mediante Tukey ($p \leq 0.05$)

Tratamiento	Variables estimables referentes a la germinación (%)				
	Pg	Tg	Ig	Iv	CVG
T5C1	95.25±0.5 ^a	6.50±0.28 ^a	0.98±0.04 ^a	0.99±0.06 ^a	0.24±0.06 ^a
T5C2	93 ± 0.4 ^{ab}	6.50±0.28 ^a	0.96±0.04 ^{ab}	0.98±0.04 ^{ab}	0.21±0.01 ^{ab}
T4C1	90.5±0.6 ^{abc}	6.50±0.28 ^a	0.93±0.01 ^{abc}	0.94±0.04 ^{abcd}	0.11±0.01 ^{ef}
T5C3	90±0.4 ^{abc}	6.25±0.25 ^a	0.92±0.0 ^{abcd}	0.96±0.04 ^{abc}	0.19±0.01 ^{bc}
T1C2	89± 5 0.3 ^{abcd}	6.50±0.28 ^a	0.35±0.03 ^{bcdefg}	0.86±0.01 ^{bcdef}	0.10±0.08 ^{ef}
T4C2	88.5±0.6 ^{abcd}	5.75±0.25 ^a	0.90±0.01 ^{bcdef}	0.91±0.28 ^{abcde}	0.12±0.06 ^{def}
T5C4	87.25±0.5 ^{bcde}	6.50±0.47 ^a	0.87±0.04 ^{bcdef}	0.92±0.04 ^{abcde}	0.17±0.09 ^{df}
T3C2	87.25±1.3 ^{bcde}	6.25±0.47 ^a	0.89±0.01 ^{bcdef}	0.91±0.02 ^{abcde}	0.14±0.13 ^{de}
T2C1	86.75±1.6 ^{bcde}	6.50±0.28 ^a	0.85±0.02 ^{bcdefg}	0.86±0.01 ^{abcdef}	0.11±0.08 ^{ef}
T3C1	86.5±2.5 ^{bcde}	6.25±0.25 ^a	0.91±0.02 ^{abcde}	0.93±0.01 ^{abcde}	0.13±0.08 ^{def}
T2C2	86.25±2.6 ^{bcde}	6.50±0.28 ^a	0.88±0.02 ^{bcdef}	0.90±0.02 ^{abcde}	0.12±0.04 ^{ef}
T2C3	85.5±2.0 ^{bcde}	6.50±0.28 ^a	0.79±0.02 ^{defg}	0.82±0.03 ^{def}	0.09±0.04 ^{ef}
T1C4	85±0.4 ^{cdef}	6.50±0.28 ^a	0.78±0.03 ^{fg}	0.81±0.02 ^{def}	0.09±0.04 ^f
T4C3	84.6±0.5 ^{cdef}	6.40±0.50 ^a	0.85±0.01 ^{bcdefg}	0.90±0.02 ^{abcde}	0.10±0.01 ^{ef}
T1C1	84.5±2.5 ^{cdef}	6.00±0.40 ^a	0.87±0.03 ^{bcdef}	0.90±0.02 ^{abcde}	0.13±0.04 ^{def}
T1C3	84±2.1 ^{cdef}	6.50±0.28 ^a	0.81±0.03 ^{cdefg}	0.84±0.03 ^{cdef}	0.11±0.04 ^{ef}
T3C3	83.25±2.0 ^{cdef}	6.25±0.25 ^a	0.87±0.03 ^{bcdef}	0.90±0.02 ^{abcde}	0.1±0.004 ^{ef}
T4C4	82±0.6 ^{def}	6.66±0.57 ^a	0.82±0.05 ^{cdefg}	0.83±0.06 ^{cdef}	0.12±0.05 ^{ef}
T3C4	81.5±1.6 ^{def}	6.75±0.25 ^a	0.80±0.06 ^{defg}	0.84±0.01 ^{cdef}	0.12±0.08 ^{def}
T2C4	77.5±1.6 ^{fg}	6.50±0.28 ^a	0.79±0.02 ^{efg}	0.82±0.02 ^{def}	0.10±0.02 ^{ef}
Testigo	73.75±2.8 ^g	6.75±0.25 ^a	0.74±0.04 ^g	0.77±0.04 ^f	0.10±0.04 ^f

Tratamiento: T1=Cu, T2=Zn, T3=Cu_{25%}-Zn_{75%}, T4=Cu_{50%}-Zn_{50%}, T5=Cu_{75%}-Zn_{25%}. Concentraciones usadas: C1= 50 mg L⁻¹, C2= 100 mg L⁻¹, C3= 150 mg L⁻¹, C4= 200 mg L⁻¹, Testigo: dH₂O sin ninguna concentración de NPs. Pg: Porcentaje de germinación; Tg: Tiempo de germinación; Ig: Índice de germinación; CVG: Coeficiente de velocidad de germinación; Iv: Índice de vigor. Los datos se presentan con media ± Error estándar.

Los resultados en general indican que una concentración de 50 mg L⁻¹ del tratamiento de Cu_{75%}-Zn_{25%} en cuanto al Pg de las semillas de tomate, fue superior al 90% (cuadro 3.4), inclusive mejor a los tratamientos con Zn en estado puro a la misma concentración; al respecto [35, 37] reportaron que este elemento es un material altamente estimulante de la germinación debido a sus propiedades fotocatalíticas, destacándose como un promotor eficiente en la estimulación de semillas de hortalizas y granos. Además, en cuando a la variable Ig este tratamiento también demostró una superioridad en cuanto al tratamiento testigo, lo que indica que la sinergia entre el Cu y Zn permite una mayor interacción con la semilla, y que de acuerdo con [36] acelera su desarrollo y su crecimiento con mayor uniformidad.

La combinación de este tratamiento Cu_{75%}-Zn_{25%} en donde el Cu está presente en mayor proporción, la inclusión de Zn complementa y modula sus efectos para obtener un equilibrio óptimo en la nutrición de las semillas. El Cu, al estar en mayor concentración, asegura una

disponibilidad suficiente de iones que favorecen la activación de enzimas clave en los procesos metabólicos y de crecimiento inicial. Sin embargo, el Zn, aunque está en menor concentración, desempeña un papel indispensable en la síntesis de hormonas de crecimiento y en la estabilización de proteínas, que son esenciales para la formación de raíces y el desarrollo estructural de las plántulas. Esta sinergia entre Cu y Zn no solo acelera el Tg, sino que también aumenta el CVG, lo que se traduce en una mayor rapidez y consistencia en el desarrollo de las plántulas, lo que mejora significativamente el proceso de germinación [36, 37].

Según [38-39] la aleación altamente en Cu y en menor proporción que el Zn, potencializa las propiedades catalíticas y permite un óptimo desarrollo del sistema radicular gracias a la creación de un entorno favorable, ya que el Cu coadyuva en la absorción de agua, generando un equilibrio. Además, esto se debe también a una racionalización de las dosis empleadas, puesto que de acuerdo con [36, 40] no sería conveniente aplicar dosis superiores a los 200 mg L⁻¹, porque al no contar con estructuras primarias en la raíz, estos micronutrientes no se aprovecharían de forma inmediata puesto sino conforme se desarrollen las raíces de la plántula; además de que una alta dosis de estos materiales podría ser contraproducente, ya que se asocia con fitotoxicidad y retraso en el proceso de germinación analizado.

No se encontró ninguna diferencia en cuanto al Tg entre los tratamientos evaluados, lo que indica que no influye de forma sustancial en acelerar dicho proceso; mientras que en cuanto al Iv y CVG el mejor tratamiento evaluado sigue siendo el tratamiento antes mencionado, esto indica que las semillas se desarrollaron de forma uniforme y progresiva, lo que indica un proceso óptimo de germinación ideal para el desarrollo de las estructuras primarias, en contraste con lo observado en el tratamiento testigo, donde su comportamiento fue inferior a lo señalado en este tratamiento, puesto que como se ha reportado en condiciones controladas sin tener un efecto estimulantes por medio de la adición de algún elemento extra, no genera un alto Iv ni una valor alto referente al CVG [36, 37].

En el cuadro 3.5 se muestran los resultados obtenidos en las variables morfométricas evaluadas, donde el tratamiento Cu_{75%}-ZnO_{25%} a 200 mg L⁻¹; presentó un mayor valor en la variable Lb, hasta 7.2 cm, significativamente superiores a los otros tratamientos. Esto sugiere que la combinación de Cu y ZnO en esta proporción y concentración tiene un efecto sinérgico positivo en el crecimiento del brote, principalmente en el incremento en la longitud de las plantas, lo que de acuerdo con [35] puede atribuirse a la acción de las NPs, lo que resulta en una expansión óptima de los tejidos meristemáticos (figura 3.3).

Cuadro 3.5. Comparación de medias sobre las variables morfométricas en el proceso de germinación de semillas de tomate por acción de las NPs mediante Tukey ($p \leq 0.05$)

Tratamiento	Variables morfométricas					
	Lb (%)	Pfb (g)	Psb (g)	Lr (%)	Pfr (g)	Psr (g)
T5C1	8.85±0.63 ^b	0.47±0.006 ^{cd}	0.15±0.029 ^{bc}	7.55±0.45 ^b	0.43±0.40 ^b	0.15±0.13 ^{abcd}
T5C2	9.6±0.26 ^{ab}	0.49±0.007 ^{bcd}	0.19±0.006 ^{ab}	8.15±0.06 ^{ab}	0.51±0.013 ^a	0.16±0.004 ^{abc}
T4C1	7.67±0.07 ^c	0.47±0.006 ^{cd}	0.13±0.004 ^c	5.97±0.13 ^c	0.34±0.060 ^c	0.11±0.008 ^{de}
T5C3	9.95±0.10 ^a	0.53±0.036 ^b	0.19±0.008 ^{ab}	8.35±0.06 ^a	0.54±0.007 ^a	0.17±0.004 ^{ab}
T1C2	7.75±0.13 ^c	0.47±0.004 ^{cd}	0.13±0.004 ^{cd}	5.67±0.07 ^c	0.34±0.060 ^c	0.10±0.006 ^{bcd}
T4C2	7.17±0.08 ^c	0.90±0.015 ^d	0.12±0.006 ^{cd}	5.65±0.06 ^c	5.84±0.10 ^a	0.13±0.011 ^{bcd}
T5C4	9.47±0.11 ^{ab}	0.60±0.006 ^a	0.20±0.004 ^a	8.37±0.09 ^a	0.34±0.008 ^c	0.18±0.004 ^a
T3C2	7.6±0.07 ^c	0.47±0.004 ^{bcd}	0.13±0.007 ^{cd}	5.55±0.06 ^c	0.32±0.006 ^c	0.11±0.006 ^{de}
T2C2	7.5±0.08 ^c	0.47±0.009 ^{cd}	0.13±0.004 ^{cd}	5.67±0.06 ^c	0.34±0.004 ^c	0.09±0.002 ^{ef}
T3C1	7.35±0.011 ^c	0.44±0.006 ^{cd}	0.13±0.006 ^{cd}	6.00±0.16 ^c	0.31±0.006 ^c	0.12±0.012 ^{cde}

T2C1	7.42±0.08 ^c	0.49±0.018 ^{bcd}	0.11±0.007 ^{cde}	5.97±0.13 ^c	0.32±0.020 ^c	0.12±0.004 ^{cde}
T2C3	7.72±0.04 ^c	0.49±0.007 ^{bcd}	0.12±0.010 ^{cde}	5.80±0.10 ^c	0.33±0.006 ^c	0.12±0.008 ^{bcd}
T1C4	7.75±0.18 ^c	0.51±0.006 ^{bc}	0.12±0.009 ^{cde}	6.17±0.04 ^c	0.34±0.010 ^c	0.10±0.009 ^{ef}
T4C3	7.70±0.07 ^c	0.47±0.005 ^{cd}	0.12±0.007 ^{cde}	5.84±0.10 ^c	0.35±0.003 ^c	0.13±0.011 ^{bcd}
T1C1	7.50±0.40 ^c	0.30±0.006 ^e	0.08 ± 0.004 ^e	4.10± 0.04 ^d	0.22±0.004 ^d	0.06±0.002 ^{bcd}
T1C3	7.5±0.04 ^c	0.50±0.004 ^{bc}	0.13±0.006 ^c	6.15± 0.006 ^c	0.35±0.004 ^c	0.10± 0.009 ^f
T3C3	7.52±0.04 ^c	0.47±0.009 ^{cd}	0.13±0.008 ^{cd}	5.75±0.006 ^c	0.34±0.006 ^c	0.13±0.006 ^{bcd}
T4C4	7.80± 0.25 ^c	0.47±0.005 ^{cd}	0.12±0.005 ^{cde}	6.13±0.008 ^c	0.36±0.008 ^c	0.11±0.005 ^e
T3C4	7.47± 0.08 ^c	0.48±0.006 ^{bcd}	0.13±0.006 ^c	5.95±0.006 ^c	0.35±0.006 ^c	0.11±0.004 ^e
T2C4	7.50±0.14 ^c	0.49±0.006 ^{bcd}	0.12±0.064 ^{cde}	5.95±0.006 ^c	0.33±0.006 ^c	0.10±0.004 ^e
Testigo	4.85± 0.06 ^f	0.30±0.006 ^e	0.08±0.006 ^{de}	4.15±0.006 ^d	0.22±0.004 ^d	0.06±0.002 ^f

Tratamiento: T1=Cu, T2=ZnO, T3=Cu25%-ZnO75%, T4=Cu50%-ZnO50%, T5=Cu75%-ZnO25%. Concentraciones usadas: C1= 50 mg L⁻¹, C2= 100 mg L⁻¹, C3= 150 mg L⁻¹, C4= 200 mg L⁻¹, Testigo: dH₂O sin ninguna concentración de NPs. Lb; Longitud de brote; Pfb: Peso fresco de brote; Psb: Peso seco de brote; Lr: Longitud de raíz, Pfr: Pesofresco de raíz; Psr: Peso seco de raíz. Los datos se presentan con media ± Error estándar.



a) Cu_{75%}-Zn_{25%} a 50 mg L⁻¹; b) Cu_{75%}-Zn_{25%} a 100 mg L⁻¹; c) Testigo

Figura 3.3. Plántulas bajo el efecto de las NPs de Cu-Zn bajo diferentes concentraciones

Este tratamiento de Cu_{75%}-ZnO_{25%} a 200 mg L⁻¹. permitió que las plántulas ganaran peso, lo que indica un aumento en la biomasa acumulada en las variables (Pfb, Psb, Pfr y Psr), sugiriendo un estado fisiológico y metabólico óptimo en las plántulas; esto también es un indicador crítico del vigor y del desarrollo de la planta al tener una estructura más densa, lo que podría estar relacionado con un mejor aprovechamiento de nutrientes según lo señalada por [41, 42].

Además, en un sustrato como el papel filtro, donde la disponibilidad de nutrientes es altamente dependiente de la solución nutritiva, puesto que según [36, 43] este permite mejorar la absorción y utilización de estos nutrientes para las semillas, lo que es crucial para explicar el aumento en la biomasa seca (Psb y Psr) [36].

El aumento en el Pfb y Pfr generado por este tratamiento sugiere que las NPs de Cu y Zn facilitan una mayor eficiencia en la absorción de agua por las raíces; esto podría estar relacionado con la capacidad de las NPs para el transporte de solutos y agua dentro de la planta, lo que según [42, 44] da como resultado que los tejidos vegetales mantengan un estado de turgencia óptimo, que favorece el crecimiento celular, así como la expansión de los brotes y las hojas, lo que contribuye a un mayor peso fresco.

Este tratamiento también reflejó un mayor valor en la Lr respecto al tratamiento testigo, lo que es crucial para una mejor absorción de agua y nutrientes, lo que propicia un soporte más robusto para el crecimiento de la raíz. Probablemente mejoró la capacidad de las raíces para explorar el sustrato, lo que facilitó una absorción más eficiente de agua y nutrientes presentes gracias a la

acción de las NPs, lo que ocasiono que las raíces se desarrollaran de manera más extensa y profunda. Lo que de acuerdo con [35, 44] esto propició un aumento en la Lr y una mejor adaptación de las plantas a las condiciones experimentales.

3.3.3. Influencia del tamaño de la nanopartícula en la germinación

El análisis de la covarianza con respecto a la influencia del tamaño de las NPs sobre el efecto germinativo (anexo I), tanto en las variables evaluadas, morfométricas y germinativas; se determinó que no existe una relación estadísticamente significativa en las variables, lo que demuestra que la utilización de NPs de Cu y ZnO con tamaños variados en el desarrollo de nuevas plantas de tomate, no tiene un impacto relevante en la germinación, lo deseable es desarrollar ajustes de los estimadores de media en los modelos estándar de covarianza.

3.4 Conclusiones

El proceso de síntesis de NPs de Cu-Zn en proporciones preestablecidas permite un mayor acoplamiento de estos materiales en proporciones similares de Pa y Pr, aunque no se generen estructuras con forma regular esférica y a su vez se presenten diferentes fases de los elementos en su fase oxidada como el CuO y Cu₂O en el caso del Cu; y ZnO en lo referente al Zn representado en estas aleaciones, pero que no limitó la formación de nanomateriales bimetálicos altamente funcionales, gracias a la diversidad de compuestos originados a base de Cu y Zn, que potencializó la eficiencia de las aleaciones. Asimismo, se destacó la presencia de Cu metálico, solo en la síntesis de NPs a base de Cu puro, producto de la interacción con el medio acuoso con el que fueron sintetizadas.

En cuanto al efecto germinativo, se observó una respuesta favorable en el tratamiento Cu_{75%}-Zn_{25%} con una concentración de 50 mg L⁻¹, al encontrarse efectos significativos en el Pg, Iv, Ig y CVG; derivado de la influencia del Cu, que está en mayor concentración, ya que facilitó un entorno favorable para el inicio y desarrollo del proceso germinativo, mientras que el Zn en esta proporción ayudó al crecimiento inicial de la planta; y a su vez tienen un efecto significativo en las variables morfométricas Lr y Lb, así como en el Pfb, Psb, Pfr y Psr, lo que se reflejó en un crecimiento más equilibrado y robusto debido a una mayor absorción de agua y nutrientes por efecto de las NPs. Asimismo, no se observó ninguna influencia del tamaño de las NPs en cada una de las variables evaluadas, lo que indica que la promoción del crecimiento vegetal de las plántulas de tomate debe más a la composición química y concentración de las NPs que a su dimensión física.

Este balance en la composición de Cu y Zn es crucial para garantizar que las plantas germinen de manera efectiva y desarrollen estructuras más fuertes y estables, lo que maximiza su potencial de crecimiento en ambientes controlados.

3.5 Bibliografía

1. De la Rosa, G., López-Moreno, M. L., de Haro, D., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. Effects of ZnO Nanoparticles In Alfalfa, Tomato, And Cucumber At The Germination Stage: Root Development And X-Ray Absorption Spectroscopy Studies. *Pure and Applied Chemistry*. **2023**, 85, 12, 2161-2174. <https://doi.org/10.1351/pac-con-12-09-05>
2. Raja, K., Sowmya, R., Sudhagar, R., Moorthy, P. S., Govindaraju, K., & Subramanian, K. S. Biogenic ZnO and Cu Nanoparticles To Improve Seed Germination Quality In Blackgram (*Vigna mungo*). *Materials Letters*. **2019**, 235, 164-167. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2018.10.038>

3. Faizan, M., Hayat, S., & Pichtel, J. Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Crop Plants: A Perspective Analysis. *Sustainable Agriculture Reviews. Nanotechnology for Plant Growth and Development*. **2020**, 83-99. https://doi.org/10.1007/978-3-030-33996-8_4
4. Srivastav, A., Ganjewala, D., Singhal, R. K., Rajput, V. D., Minkina, T., Voloshina, M., & Shrivastava, M. Effect Of Zno Nanoparticles On Growth And Biochemical Responses Of Wheat And Maize. *Plants*. **2021**, 10, 12, 2556. <https://doi.org/10.3390/plants10122556>
5. Van Nguyen, D., Nguyen, H. M., Le, N. T., Nguyen, K. H., Nguyen, H. T., Le, H. M., & Van Ha, C. Copper Nanoparticle Application Enhances Plant Growth And Grain Yield In Maize Under Drought Stress Conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*. **2022**, 41, 1, 364-375. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10301-w>
6. López-Lima, D., Mtz-Enriquez, A. I., Carrión, G., Basurto-Cereceda, S., & Pariona, N. The Bifunctional Role of Copper Nanoparticles in Tomato: Effective Treatment For *Fusarium* Wilt And Plant Growth Promoter. *Scientia Horticulturae*. **2021**, 277, 109810.
7. Wang, C., Liu, X., Li, J., Yue, L., Yang, H., Zou, H., & Xing, B. (2021). Copper Nanoclusters Promote Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) Yield And Quality Through Improving Photosynthesis And Roots Growth. *Environmental Pollution*. **2021**, 289, 117912. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117912>
8. Nekoukhou, M., Fallah, S., Pokhrel, L. R., Abbasi-Surki, A., & Rostamnejadi, A. Foliar Enrichment Of Copper Oxide Nanoparticles Promotes Biomass, Photosynthetic Pigments, And Commercially Valuable Secondary Metabolites And Essential Oils In Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) Under Semi-Arid Conditions. *Science of the Total Environment*. **2023**, 863, 160920. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160920>
9. Rather, B. A., Masood, A., Sehar, Z., Majid, A., Anjum, N. A., & Khan, N. A. Mechanisms And Role Of Nitric Oxide In Phytotoxicity-Mitigation Of Copper. *Frontiers in plant science*. **2020**, 11, 503136. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00675>
10. Wang, W., Liu, J., Ren, Y., Zhang, L., Xue, Y., Zhang, L., & He, J. Phytotoxicity Assessment Of Copper Oxide Nanoparticles On The Germination, Early Seedling Growth, And Physiological Responses In *Oryza Sativa* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **2020**, 104, 770-777. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02850-9>
11. Malviya, T., Prabha, M., Tiwari, P., & Singh, V. Gum Arabic Capped Cu/Zn Bimetallic Nanoparticles For The Germination And Growth Of Chickpea. *Materials Today: Proceedings*. **2023**. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.03.638>
12. Tryfon, P., Kamou, N. N., Ntalli, N., Mourdikoudis, S., Karamanoli, K., Karfaridis, D., & Dendrinou-Samara, C. Coated Cu-Doped Zno And Cu Nanoparticles As Control Agents Against Plant Pathogenic Fungi And Nematodes. *NanoImpact*. **2022**, 28, 100430. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2022.100430>
13. Abd El-Latef, E. A., Wahba, M. N., Mousa, S., El-Bassyouni, G. T., & El-Shamy, A. M. (2023). Cu-Doped Zno-Nanoparticles As A Novel Eco-Friendly Insecticide For Controlling *Spodoptera Littoralis*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. **2023**, 52, 102823. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102823>
14. Carofiglio, M., Barui, S., Cauda, V., & Laurenti, M. Doped Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization And Potential Use In Nanomedicine. *Applied Sciences*. **2020**, 10, 15, 5194. <https://doi.org/10.3390/app10155194>
15. Mehtab, A., Ahmed, J., Alshehri, S. M., Mao, Y., & Ahmad, T. Rare Earth Doped Metal Oxide Nanoparticles For Photocatalysis: A Perspective. *Nanotechnology*. **2022**, 33, 14, 142001. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ac43e7>

16. Sajid, M., & Płotka-Wasyłka, J. (2020). Nanoparticles: Synthesis, Characteristics, And Applications In Analytical And Other Sciences. *Microchemical Journal*. **2020**, *154*, 104623. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104623>
17. Khalid, A., Ahmad, P., Khan, A., Muhammad, S., Khandaker, M. U., Alam, M. M., & Emran, T. B. Effect Of Cu Doping On Zno Nanoparticles As A Photocatalyst For The Removal Of Organic Wastewater. *Bioinorganic chemistry and applications*. **2022**. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132081>
18. Karthik, K. V., Raghu, A. V., Reddy, K. R., Ravishankar, R., Sangeeta, M., Shetti, N. P., & Reddy, C. V. Green Synthesis Of Cu-Doped Zno Nanoparticles And Its Application For The Photocatalytic Degradation Of Hazardous Organic Pollutants. *Chemosphere*. **2022**, *287*, 132081. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132081>
19. Cruz-Luna, A.R.; Cruz-Martínez, H.; Vásquez-López, A.; Medina, D.I. Metal Nanoparticles As Novel Antifungal Agents For Sustainable Agriculture: Current Advances And Future Directions. *J. Fungi*. **2021**, *7*, 1033. <https://doi.org/10.3390/jof7121033>
20. Cruz-Luna, A.R.; Vásquez-López, A.; Rojas-Chávez, H.; Valdés-Madrigal, M.A.; Cruz-Martínez, H.; Medina, D.I. Engineered Metal Oxide Nanoparticles As Fungicides For Plant Disease Control. *Plants*. **2023**, *12*, 2461. <https://doi.org/10.3390/plants12132461>
21. Włodarczyk, K., & Smolińska, B. (2022). The Effect Of Nano-Zno On Seeds Germination Parameters Of Different Tomatoes (*Solanum Lycopersicum* L.) Cultivars. *Molecules*. **2023**, *27*, 15, 4963. <https://doi.org/10.3390/molecules27154963>
22. Matthews, S.; Khajeh-Hosseini, M. Length Of The Lag Period Of Germination And Metabolic Repair Explain Vigour Differences In Seed Lots Of Maize (*Zea mays*). *Seed Sci. Technol.* **2007**, *35*, 200–212. <https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.1.18>
23. Tao, K.L.; Zheng, G.H. Seed Vigour; *Science Press*: Beijing, China, **1990**; p.268. (In Chinese)
24. Raju, P., Deivatamil, D., Martin Mark, J. A., & Jesuraj, J. P. Antibacterial And Catalytic Activity Of Cu Doped Zno Nanoparticles: Structural, Optical, And Morphological Study. *Journal Of The Iranian Chemical Society*. **2022**, *19*, 3, 861-872. <https://doi.org/10.1007/s13738-021-02352-3>
25. Jones, K.W.; Sanders, D.C. The Influence Of Soaking Pepper Seed In Water Or Potassium Salt Solutions On Germination At Three Temperatures. *J. Seed Technol.* **1987**, *11*, 97–102. 32.
26. Vashisth, A.; Nagarajan, S. Effect On Germination and Early Growth Characteristics in Sunflower (*Helianthus annuus*) Seeds Exposed to Static Magnetic Field. *J. Plant Physiol.* **2009**, *167*, 149–156.
27. Tymoszyk, A. Silver Nanoparticles Effects On In Vitro Germination, Growth, And Biochemical Activity Of Tomato, Radish, And Kale Seedlings. *Materials*. **2021**, *14*, 5340. <https://doi.org/10.3390/ma14185340>
28. Mahmoud, A., Echabaane, M., Omri, K., Boudon, J., Saviot, L., Millot, N., & Chaabane, R. B. (2021). Cu-Doped Zno Nanoparticles For Non-Enzymatic Glucose Sensing. *Molecules*. **2021**, *26*, 4, 929. <https://doi.org/10.3390/molecules26040929>
29. Senol, S. D., Ozugurlu, E., & Arda, L. Synthesis, Structure And Optical Properties Of (Mn/Cu) Co-Doped Zno Nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*. **2020**, *822*, 153514. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.153514>
30. Naik, E. I., Naik, H. B., Swamy, B. K., Viswanath, R., Gowda, I. S., Prabhakara, M. C., & Chetankumar, K. (2021). Influence Of Cu Doping On Zno Nanoparticles For Improved Structural, Optical, Electrochemical Properties And Their Applications In Efficient

- Detection Of Latent Fingerprints. *Chemical Data Collections*. **2021**, *33*, 100671. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2021.100671>
31. Guo, H.; Liu, Y.; Chen, J.; Zhu, Y.; Zhang, Z. The Effects Of Several Metal Nanoparticles On Seed Germination And Seedling Growth: A Meta-Analysis. *Coatings*. **2022**, *12*, 183. <https://doi.org/10.3390/coatings12020183>
 32. Sengul, A. B., & Asmatulu, E. Toxicity Of Metal And Metal Oxide Nanoparticles: A Review. *Environmental Chemistry Letters*. **2020**, *18*, 5, 1659-1683. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01033-6>
 33. Danish, M.S.S.; Estrella, L.L.; Alemaida, I.M.A.; Lisin, A.; Moiseev, N.; Ahmadi, M.; Nazari, M.; Wali, M.; Zaheb, H.; Senjyu, T. Photocatalytic Applications Of Metal Oxides For Sustainable Environmental Remediation. *Metals*. **2021**, *11*, 80. <https://doi.org/10.3390/met11010080>
 34. Salih, A.M.; Qahtan, A.A.; Al-Qurainy, F.; Al-Munqedhi, B.M. Impact of Biogenic Ag-Containing Nanoparticles on Germination Rate, Growth, Physiological, Biochemical Parameters, and Antioxidants System of Tomato (*Solanum tuberosum* L.) *In Vitro. Processes* **2022**, *10*, 825. <https://doi.org/10.3390/pr10050825>
 35. Guo, H.; Liu, Y.; Chen, J.; Zhu, Y.; Zhang, Z. The Effects Of Several Metal Nanoparticles On Seed Germination And Seedling Growth: A Meta-Analysis. *Coatings*. **2022**, *12*, 183. <https://doi.org/10.3390/coatings12020183>
 36. Bayat, M.; Zargar, M.; Murtazova, K.M.-S.; Nakhaev, M.R.; Shkurkin, S.I. Ameliorating Seed Germination And Seedling Growth Of Nano-Primed Wheat And Flax Seeds Using Seven Biogenic Metal-Based Nanoparticles. *Agronomy*. **2022**, *12*, 811. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040811>
 37. Mishra, D.; Chitara, M. K.; Negi, S.; Pal singh, J.; Kumar, R.; Chaturvedi, P. Biosynthesis Of Zinc Oxide Nanoparticles Via Leaf Extracts Of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don And Their Application In Improving Seed Germination Potential And Seedling Vigor Of *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. *Advances in Agriculture*. **2023**, *2023*, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2023/7412714>
 38. Prażak, R.; Świącilo, A.; Krzepińko, A.; Michałek, S.; Arczewska, M. Impact Of Ag Nanoparticles On Seed Germination And Seedling Growth Of Green Beans In Normal And Chill Temperatures. *Agriculture*. **2020**, *10*, 312. <https://doi.org/10.3390/agriculture10080312>
 39. Harish, V.; Ansari, M. M.; Tewari, D.; Yadav, A. B.; Sharma, N.; Bawarig, S.; Barhoum, A. Cutting-Edge Advances In Tailoring Size, Shape, And Functionality Of Nanoparticles And Nanostructures: A Review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. **2023**, *149*, 105010. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2023.105010>
 40. López-Vargas, E.R.; González-García, Y.; Pérez-Álvarez, M.; Cadenas-Pliego, G.; González-Morales, S.; Benavides-Mendoza, A.; Cabrera, R.I.; Juárez-Maldonado, A. Seed Priming With Carbon Nanomaterials To Modify The Germination, Growth, And Antioxidant Status Of Tomato Seedlings. *Agronomy*. **2020**, *10*, 639. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050639>
 41. Ahmed, R.; Uddin, M.K.; Quddus, M.A.; Samad, M.Y.A.; Hossain, M.A.M.; Haque, A.N.A. Impact Of Foliar Application Of Zinc And Zinc Oxide Nanoparticles On Growth, Yield, Nutrient Uptake And Quality Of Tomato. *Horticulturae*. **2023**, *9*, 162. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020162>
 42. Salachna, P.; Mizielińska, M.; Płoszaj-Witkowska, B.; Jaszczak, A. Zinc Oxide Nanoparticles Enhanced Biomass And Zinc Content And Induced Changes In Biological

Properties Of Red Perilla Frutescens. *Materials*. **2021**, *14*, 6182.
<https://doi.org/10.3390/ma14206182>

43. Pérez Velasco, E.A.; Betancourt Galindo, R.; Valdez Aguilar, L.A.; González Fuentes, J.A.; Puente Urbina, B.A.; Lozano Morales, S.A.; Sánchez Valdés, S. Effects Of The Morphology, Surface Modification And Application Methods Of ZnO-Nps On The Growth And Biomass Of Tomato Plants. *Molecules*. **2020**, *25*, 1282.
<https://doi.org/10.3390/molecules25061282>
44. Asmat-Campos, D.; López-Medina, E.; Montes de Oca-Vásquez, G.; Gil-Rivero, E.; Delfín-Narciso, D.; Juárez-Cortijo, L.; Villena-Zapata, L.; Gurreonero-Fernández, J.; Rafael-Amaya, R. ZnO Nanoparticles Obtained By Green Synthesis As An Alternative To Improve The Germination Characteristics Of *L. esculentum*. *Molecules*. **2022**, *27*, 2343.
<https://doi.org/10.3390/molecules27072343>

CAPÍTULO IV

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE NANOPARTÍCULAS DE Cu-Zn

FRENTE A *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL)

Resumen

El *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) es un problema para el desarrollo del cultivo de tomate derivado de la resistencia que este ha generado a los ingredientes activos de los fungicidas, es precisamente donde las nanopartículas de Cu y Zn en aleación muestran un potencial para contrarrestar el efecto del FOL. Por consiguiente, esta investigación, se desarrolló en el año 2024 en el Instituto Tecnológico del Valle de Etna (ITVE); donde se evaluó la actividad antifúngica en dos etapas, la primera de manera *in vitro*, utilizando nanopartículas de Cu, Zn, Cu_{25%}-Zn_{75%}, Cu_{50%}-Zn_{50%} y Cu_{75%}-Zn_{25%}, en concentraciones de 250, 500, 750 y 1 000 mg L⁻¹; y la segunda etapa de manera *in vivo*, donde se evaluó el efecto antifúngico de los mejores tratamientos obtenidos en la prueba *in vitro*. Los resultados obtenidos señalan que los tratamientos a base de Cu y Cu_{75%}-ZnO_{25%} en concentraciones de 1 000 mg L⁻¹ inhibieron hasta en un 95% el crecimiento micelial del FOL de manera significativa en comparación con el testigo control según Tukey ($p \leq 0.05$). Mientras que en la prueba *in vivo*, se evaluaron estos dos tratamientos con la misma concentración adicionando dos concentraciones de 1 500 y 2 000 mg L⁻¹, lo que permitió evaluar la efectividad de estos frente a la interacción planta-hongo; donde la concentración de 2 000 mg L⁻¹ del tratamiento Cu_{75%}-ZnO_{25%}, logró reducir la Incidencia del FOL a menos del 20%, con síntomas de la enfermedad apenas visibles, lo que redujo la Severidad, la cual solo se limitó a una leve coloración marrón en el tallo, en forma de manchas; en contraste con las plantas del testigo control, de acuerdo con Tukey ($p \leq 0.05$). Estos hallazgos sugieren que las nanopartículas de Cu y Cu_{75%}-ZnO_{25%} son altamente eficientes para reducir la Incidencia y la Severidad de los síntomas de la marchitez ocasionada por el FOL en las plántulas, lo que destaca su potencial como una herramienta para el manejo de este patógeno, ofreciendo una protección robusta a los síntomas de la enfermedad, demostrando sus propiedades fungistáticas, al frenar el desarrollo del FOL.

Palabras Clave: Fungistáticos, Incidencia, Inhibición micelial, Nanomateriales, Severidad.

Abstract

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* (FOL) is a problem for the development of tomato crops due to the resistance it has generated to the active ingredients of fungicides, which is precisely

where Cu and Zn nanoparticles in alloy show potential to counteract the effect of FOL. Therefore, this research was developed in the year 2024 at ITVE, where the antifungal activity was evaluated in two stages; the first *in vitro* of Cu, Zn, Cu_{25%}-Zn_{75%}, Cu_{50%}-Zn_{50%} and Cu_{75%}-Zn_{25%}, nanoparticles, at concentrations of 250, 500, 750 and 1 000 mg L⁻¹; where the treatments based on Cu and Cu_{25%}-Zn_{75%}, at concentrations of 1 000 mg L⁻¹ inhibited up to 95% of FOL growth significantly compared to the control according to Tukey ($p \leq 0.05$). Subsequently, in the *in vivo* stage, these two treatments were tested with the same concentration evaluated in the *in vitro* part, adding two concentrations of 1 500 and 2 000 mg L⁻¹, which allowed evaluating their effectiveness against the plant-fungus interaction; where the concentration of 2 000 mg L⁻¹ of the treatment based on Cu and Cu_{75%}-Zn_{25%}, was able to reduce the incidence of FOL to less than 10%, with barely visible symptoms of the disease and a degree of severity limited to a slight brown coloration on the stem, in the form of spots, probably; in contrast to the control plants, which showed an incidence of 100% and an extreme severity, which led to the death of the plants, according to Tukey ($p \leq 0.05$). These findings suggest that Cu and Cu_{75%}-Zn_{25%} nanoparticles are highly efficient in reducing the Incidence and Severity of the disease in plants, which highlights its potential as a tool for the management of this pathogen, offering a robust protection to the symptoms of the disease, demonstrating its fungistatic properties, since it slows down the development of FOL.

Key words: Fungistatics, Incidence, Mycelial inhibition, Nanomaterials, Severity.

4.1 Introducción

F. oxysporum f. sp. *lycopersici* (FOL) es una especie de hongo fitopatógeno que forma parte de la actividad microbiana del suelo y se desarrolla a temperaturas entre 25-28° C y es considerado como la principal amenaza en las etapas de crecimiento y desarrollo de diversos cultivos [1-2], que aun tratados con dosis máximas de fungicidas sistémicos altamente enriquecidos con Cu y sus derivados, es difícil contener su desarrollo una vez iniciada la infestación en la planta hospedera [1, 3]. Esto conduce a la aplicación de dosis superiores a las recomendadas, lo que provoca efectos secundarios en la planta al inhibir la formación de nuevas raíces [4] y el engrosamiento del tallo, lo que reduce considerablemente el rendimiento [5]; además, se altera la microbiota del suelo y la composición de la materia orgánica, lo que requiere del diseño de nuevos compuestos eficientes y funcionales [6].

Para el control de esta clase de microorganismos patógenos, existe evidencia de que las nanopartículas (NPs), principalmente aquellas que derivan de metales como el Cu y óxidos metálicos como el Zn podrían ser una alternativa a los compuestos químicos convencionales [7-8]. Por ejemplo, las NPs de Cu han mostrado eficacia promisorias o incluso superiores que fungicidas convencionales frente a la marchitez vascular causada por FOL [9-10], mientras que las NPs de Zn también han conseguido inhibir el desarrollo de este hongo en estadios tempranos respecto a la sintomatología causada [11-12].

Cuando estas NPs entran en contacto con hongos patógenos, pueden adherirse a la superficie de las células fúngicas o penetrar la membrana celular; una vez dentro, alteran los procesos celulares importantes, como la respiración y la división celular, al provocar estrés oxidativo y dañar componentes celulares importantes, como proteínas y ácidos nucleico [13-14]. Este estrés oxidativo puede causar la formación de especies reactivas de oxígeno dentro de las células fúngicas, lo que lleva a la oxidación de biomoléculas y al deterioro de funciones celulares esenciales y provocar la inhibición del crecimiento y la muerte de hongos patógenos [15-16].

Además, las NPs de Cu pueden alterar la homeostasis iónica de las células fúngicas al cambiar los niveles de iones metálicos intracelulares, lo que puede afectar negativamente la viabilidad y función de las células fúngicas, sin embargo, esta interacción implica otros mecanismos que pueden inhibir el crecimiento y la reproducción de estos microorganismos [17-18].

En cambio, cuando las NPs de Zn entran en contacto con hongos fitopatógenos, interactúan con la superficie de las células fúngicas y penetran en sus estructuras celulares al inducir la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que provoca estrés oxidativo y daña biomoléculas esenciales como proteínas y ácidos nucleicos, lo que perjudica funciones celulares importantes y, en última instancia, la muerte de hongos patógenos [19-20]. Además, las NPs de Zn pueden afectar la estructura y función de la membrana celular de los hongos patógenos al interactuar con la membrana celular y alterar su integridad y permeabilidad, lo que provoca la pérdida de la barrera

protectora de las células fúngicas y la fuga de componentes celulares esenciales. Esta alteración de la membrana celular puede alterar importantes procesos metabólicos y provocar la desestabilización de las células fúngicas [21-22].

Las NPs de Zn pueden tener un efecto destructivo sobre las actividades enzimáticas y los procesos metabólicos en las células fúngicas al inhibir el crecimiento y la reproducción de hongos patógenos de las plantas al interferir con la actividad de ciertas enzimas involucradas en la respiración y otros procesos metabólicos en una gran diversidad de hongos fitopatógenos, ya que afectan diversos aspectos de su fisiología y supervivencia [23-24]. Una combinación de NPs de Cu y Zn puede permitir un efecto sinérgico entre los dos materiales, lo que resultaría en una mayor eficacia antifúngica que cuando se usan de forma individual, ya que se ha demostrado que ciertas combinaciones de NPs tienen efectos sinérgicos, siendo el efecto mayor cuando se combina que la suma de los efectos individuales de cada componente, lo que podría mejorar el control de hongos fitopatógenos y reducir la resistencia a los fungicidas [25-26].

La síntesis de NPs Cu-Zn por medio de aleaciones trata de aprovechar la sinergia que existe entre ellos, para que desarrollen las propiedades de interés con las que se pretende desarrollar este nanomaterial, y puedan lograr un mayor efecto estimulante respecto a los reportados de cada elemento de forma pura o monometálica para frenar la inhibición de patógenos en el cultivo de tomate [27-28]. Sin embargo, existen limitantes en el desarrollo de esta clase de nanomaterial, principalmente por la estandarización del procedimiento de síntesis que repercute en la morfología y el tamaño, el cual tiende a ser muy disperso debido a la variación en la reducción de las dosis de cada agente precursor, lo que dificulta en ocasiones la creación de materiales combinados bajo este enfoque [29-30].

Estos estudios demuestran que las NPs de Cu y Zn son prometedoras para el control de hongos fitopatógenos. No obstante, el uso combinado de estas NPs puede representar una estrategia más efectiva, ya que los sistemas bimetálicos han mostrado mejores propiedades antifúngicas en comparación con los sistemas monometálicos [31-32]. Por ello, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antagónico de las NPs de Cu-ZnO, tanto *in vitro* como *in vivo*, frente a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL).

4.2 Materiales y método

La presente investigación se dividió en dos etapas, la primera que corresponde a la evaluación del efecto antifúngico de las NPs de manera *in vitro* y la segunda que aborda esta misma evaluación, pero de forma *in vivo*.

4.2.1 Etapa I. Evaluación *in vitro*

Se utilizaron NPs de Cu-Zn; las cuales fueron sintetizadas en el Laboratorio de Materiales Avanzados del Instituto Tecnológico del Valle de Etla (ITVE), Santiago Suchilquitongo, México; bajo ruta química y posteriormente caracterizadas fisicoquímicamente. Se emplearon las siguientes proporciones: Cu_{25%}-Zn_{75%} con un tamaño promedio de 44.5±14.20 nm en forma de ojiva; Cu_{50%}-Zn_{50%} de 64.32±14.72 nm con forma semiesférica y Cu_{75%}-Zn_{25%} con un tamaño de 86.75±8.46 nm y forma semiesférica; así como NPs de Cu con un tamaño de 97.75±16.72 nm, forma esférica y en estado monometálica, y de Zn con un tamaño de 96±15.56 nm y forma esférica a diferentes concentraciones (cuadro 4.1). La cepa de FOL fue previamente caracterizada molecularmente; misma que se obtuvo del laboratorio de fitopatología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Oaxaca, del Instituto Politécnico Nacional (IPN), México.

Cuadro 4.1. Tratamientos a evaluar en la etapa *in vitro*

Tratamiento	Concentración (mg L ⁻¹)			
	1	2	3	4
Cu	250	500	750	1 000
Zn	250	500	750	1 000
Cu _{75%} -Zn _{25%}	250	500	750	1 000
Cu _{50%} -Zn _{50%}	250	500	750	1 000
Cu _{25%} -Zn _{75%}	250	500	750	1 000
Testigo*	---	---	---	---

*Medio de cultivo PDA sin NPs.

Este proceso se realizó en el laboratorio de Biotecnología del ITVE, donde primero se preparó una solución de medio de cultivo PDA mezclando 39 g de este agar en un litro de agua desionizada y posteriormente se añadieron los tratamientos indicados previamente (cuadro 4.1); a la solución preparada y se sonicaron durante 10 min en un sonicador modelo B01HGN40SQ para su dispersión en el medio de cultivo y evitar la formación de conglomerados de estas NPs y asegurar homogeneidad en el medio, excepto el tratamiento testigo.

Posteriormente se esterilizó cada solución preparada en una autoclave semiautomática modelo CVQ-280D, durante 15 min a una presión de 15 psi y a una temperatura de 121.5° C. En una cámara de flujo laminar modelo EOS-CV-2; donde se vertieron aproximadamente 10 mL de cada medio preparado en placas de Petri desechables de 50x10 mm y se sembró una rodaja explante de 5 mm de diámetro de FOL en el centro de las cajas; las cuales se incubaron a 25±2° C en una cámara de aclimatación modelo HCP 240 durante nueve días según el procedimiento propuesto por [18, 23]. Cada tratamiento contó de seis repeticiones, considerando como unidad experimental la caja de Petri inoculada con el patógeno.

4.2.1.1 Variables a evaluar

Se evaluó el porcentaje de inhibición micelial (MIP por sus siglas en inglés) propuesta por [19] mediante la Ec.1:

$$MIP (\%) = \frac{R_1 - R_2}{R_1} * 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde, R1 es el crecimiento radial del grupo de control y R2 es el crecimiento radial de cada tratamiento.

4.2.2 Etapa II. Evaluación *in vivo*

Se germinaron semillas de tomate var. Moctezuma F1 (Harris Morgan, España) en charolas de unisel de 67x33x7 cm con capacidad de 200 plantas. A los 21 días se trasplantaron en macetas de polipropileno conteniendo un sustrato de *peat moss* previamente esterilizado a vapor durante tres días por ciclos de 2 h continuas a una presión constante de 1.5 psi y 121.5° C. Posteriormente se trasladaron al invernadero de pruebas biológicas del ITVE, donde se mantuvieron en condiciones constantes de temperatura (25±2° C) y humedad relativa (50±10 %), suministrándoles una solución del fertilizante triple 18 (N, P, K) a razón de 100 mg L⁻¹ siete días después de acuerdo con lo propuesto por [19, 20]. La infección con el FOL se realizó con una solución de ajustada a 1x10⁶ de microconidias/mL, vertiendo 10 mL con ayuda de una jeringa estéril con capacidad de 10 mL 28 días después del trasplante. A los tres días de la infección se aplicaron los tratamientos propuestos por aspersión foliar acorde a lo propuesto por [18, 23].

Para esta prueba también se utilizaron los dos mejores tratamientos obtenidos en la prueba *in vitro*, una vez realizados los análisis correspondientes, adicionando las concentraciones de 1 500 y 2 000 mg L⁻¹ (cuadro 4.2), para superar las posibles barreras biológicas y fisicoquímicas del sustrato y la planta, garantizando una cantidad suficiente de nanopartículas disponibles para el control antifúngico efectivo [25].

Cuadro 4.2. Tratamientos a evaluar en la etapa *in vivo*

Tratamiento	Concentración (mg L ⁻¹)		
	1	2	3
Cu	1 000	1 500	2 000
Cu _{75%} -Zn _{25%}	1 000	1 500	2 000
Testigo Control*	---	---	---
Testigo Absoluto**	---	---	---

*Plantas inoculadas con FOL sin adición de tratamientos a base de NPs. **Plantas no inoculadas y sin adición de tratamientos a base de NPs.

Una vez que se manifestaron los síntomas de la enfermedad en las plantas de tomate evaluadas en esta etapa, se procedió a hacer un aislamiento del hongo mediante cortes de tejido infectado provenientes de hoja y tallo que mostraron síntomas característicos del FOL, para posteriormente

realizar su caracterización molecular y corroborar la presencia del hongo, lo que verifica la efectividad de los tratamientos frente a este patógeno.

4.2.2.1 Variables a evaluar

Para esta etapa se evaluaron dos variables, la Severidad (Se) de la enfermedad acorde a lo indicado en el cuadro 4.3; evaluada una vez que las plantas del tratamiento testigo empezaron a presentar síntomas de la enfermedad posterior a la inoculación con el patógeno.

Cuadro 4.3. Escala para evaluar la severidad de la enfermedad del tomate por FOL*

Clase	Intensidad
0	Sin síntomas visibles de la enfermedad.
1	Puntos necróticos en hipocótilo.
2	Hojas marchitas, oscurecimiento en la base del hipocótilo o disminución en el crecimiento de la planta.
3	Marchitez, lesión necrótica 1-5 cm y disminución en el crecimiento de la planta.
4	Lesión necrótica 6-10 cm, defoliación y disminución del crecimiento.
5	Muere la planta.

*Escala propuesta por [23]

Asimismo, se evaluó la Incidencia (In) mediante la formula de la Ec. 2:

$$In (\%) = \frac{IA}{N} * 100 \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde In es igual a Incidencia, el total de individuos afectados corresponde a la variable IA, que muestran síntomas de la enfermedad y la variable N es el total de la población por tratamiento [24].

4.2.3 Análisis de datos

Las variables MIP evaluadas en la etapa I, así como las variables de la etapa II, I y S; se sometieron a análisis estadísticos de normalidad, homogeneidad y ANOVA, seguido de una prueba de medias por el método de Tukey ($p \leq 0.05$); donde primero se realizaron los analisis referentes a la etapa I, donde se identificaron los tratamientos más significativos para evaluarlos en la etapa II. No se realizó ninguna transformación para cada una de las variables propuestas, puesto que cumplen con los parámetros de normalidad. Se utilizó el paquete estadístico R statistics versión 4.3.0.

4.3 Resultados y discusión

Los resultados se presentan por etapas, la primera que corresponde a la evaluación *in vitro* y la segunda etapa referente a la parte *in vivo*.

4.3.1 El efecto antifúngico *in vitro*

Las NPs de Cu tuvieron un efecto notable en la MIP a partir del tercer día posterior a la inoculación del hongo. Para el noveno día el hongo inoculado en el medio de cultivo con 1000 mg L^{-1} no mostró crecimiento; asimismo, las dosis de NPs de Cu a una concentración de 500 y 750 mg L^{-1} demostraron un efecto inhibitorio similar entre ellas (figura 4.1). Con la concentración de 250 mg L^{-1} se encontró un comportamiento similar al del tratamiento control, lo que indica que se requieren de altas dosis para lograr un efecto significativo con el uso de este metal, probablemente se deba a que con altas concentración se interfiere con los procesos bioquímicos críticos del patógeno, puesto que a concentraciones bajas, el Cu puede no alcanzar niveles adecuados dentro del entorno del cultivo para inducir una respuesta tóxica suficientemente fuerte que inhiba el crecimiento del hongo [21-22].

El uso de una concentración alta de Cu (1000 mg L^{-1}) permite una mayor interacción con la membrana celular del hongo, lo que genera un grado de estrés mucho mayor e interviene en los procesos metabólicos y enzimáticos del hongo, con lo que se muestran las altas propiedades fungistáticas en el hongo, para concentraciones menores de este material ($<1000 \text{ mg L}^{-1}$), no se puede presentar este efecto, ya que puede facilitar la adaptación del patógeno [19-20].

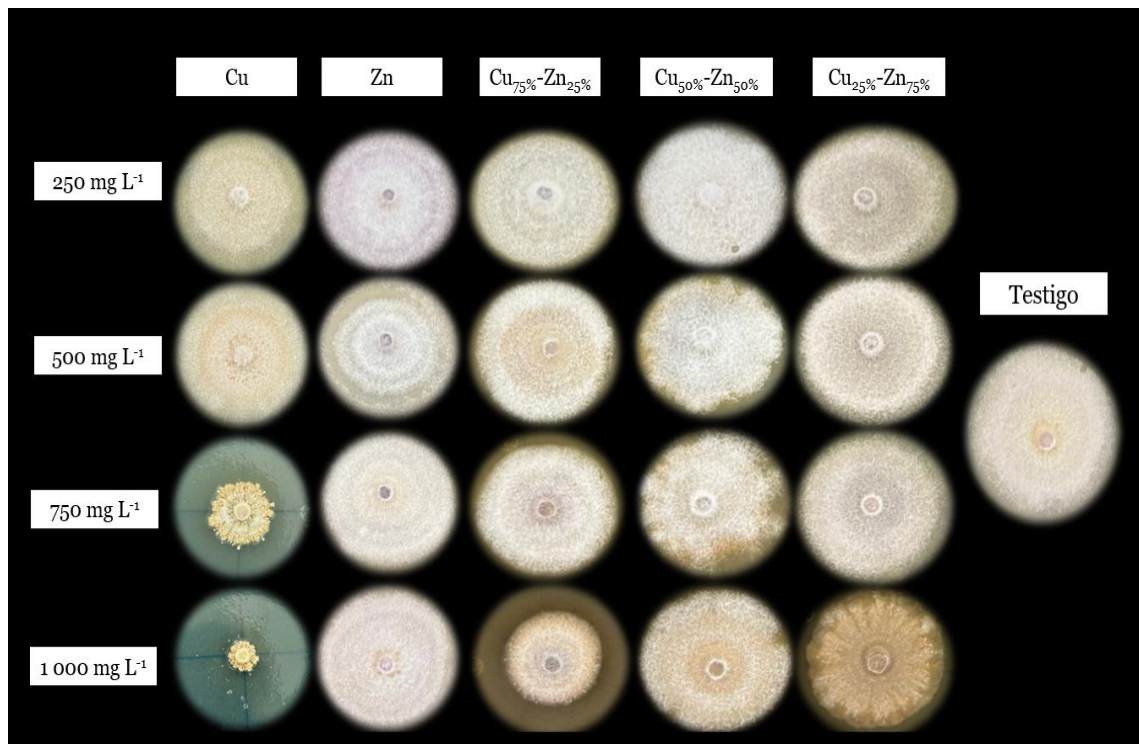


Figura 4.1. Efecto inhibitorio del FOL en medios de cultivo con NPs a diferentes concentraciones

Las NPs de Zn no mostraron un efecto significativo con respecto a la MIP al tener un comportamiento similar al tratamiento testigo, lo que indica, que dosis inferiores a los 1 000 mg L⁻¹ no son suficientes para frenar el desarrollo del hongo, aunque existen reportes de que concentraciones de 400 mg L⁻¹ o superiores de estas NPs de Zn se logran valores entre 30.78 y 47.28%, comparado con las otras soluciones [25-27]. Los resultados obtenidos son similares a las concentraciones de 250 hasta los 750 mg L⁻¹; con un MIP entre 40.73 y 42.12%, pero no suficientes en ambos casos para contener el desarrollo del hongo (cuadro 4.4).

Cuadro 4.4. Comparación de medias de los tratamientos evaluados NPs Cu-Zn mediante Tukey ($p \leq 0.05$).

Tratamiento	Concentración (mg L ⁻¹)	MIP
Cu	1 000	96.28 ± 0.02 ^a
Cu _{75%} -Zn _{25%}	1 000	95.87 ± 0.16 ^a
Cu	750	87.69 ± 2.83 ^{ab}
Cu _{50%} -Zn _{50%}	1 000	77.62 ± 3.13 ^{abc}
Cu	500	69.11 ± 2.95 ^{bcd}
Cu _{50%} -Zn _{50%}	750	66.81 ± 1.03 ^{bcd}
Cu _{25%} -Zn _{75%}	1 000	60.93 ± 3.3 ^{cdef}
Cu _{75%} -Zn _{25%}	250	58.99 ± 3.29 ^{def}
Cu _{25%} -Zn _{75%}	750	53.26 ± 1.56 ^{cdefg}
Cu _{25%} -Zn _{75%}	500	50.01 ± 1.20 ^{defg}
Cu _{50%} -Zn _{50%}	500	44.30 ± 7.24 ^{efgh}
Zn	1 000	42.12 ± 6.42 ^{efgh}
Cu _{50%} -Zn _{50%}	250	42.12 ± 6.42 ^{efgh}
Zn	750	42.12 ± 6.42 ^{efgh}
Zn	500	42.12 ± 6.42 ^{efgh}

Zn	250	40.72±8.57 ^{fghi}
Cu _{25%} -Zn _{75%}	250	40.58±1.20 ^{fghi}
Cu _{75%} -Zn _{25%}	500	30.94±8.0 ^{ghi}
Cu _{25%} -Zn _{75%}		24.64±1.90 ^{hij}
Cu	250	16.57±6.64 ^{ij}
Cu _{75%} -ZnO _{25%}	250	1.35±7.56 ^j
Testigo control	---	0.00±0 ^j

Testigo control: medio de cultivo PDA sin ninguna concentración ni tratamiento de NPs. MIP: Porcentaje de Inhibición micelial. Los valores se presentan como la media ± error estándar.

En el caso de las NPs de Cu_{25%}-Zn_{75%} y Cu_{50%}-Zn_{50%} a concentraciones de 250 a 1 000 mg L⁻¹, el Cu, principal agente antifúngico, está presente en proporciones relativamente bajas en comparación con el Zn que, aunque posee propiedades antifúngicas, su capacidad para inhibir el crecimiento de este hongo es limitada en comparación con el Cu. En estas combinaciones, el Zn no contribuye significativamente al control del hongo, y la baja proporción de Cu no fue suficiente para alcanzar una concentración efectiva que interfiera con los procesos metabólicos del patógeno en el medio PDA [20, 22].

En contraste, el tratamiento con NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%} a 1 000 mg L⁻¹ muestra un efecto inhibitorio significativo debido a la alta concentración de Cu en la formulación, ya que daña las estructuras celulares y los procesos metabólicos de FOL, con lo que se logra una inhibición efectiva del crecimiento del patógeno; por lo que una combinación específica de Cu_{75%}-Zn_{25%} a altas concentraciones se aprovechan al máximo las propiedades antifúngicas del Cu mientras mantiene el Zn en una proporción que no diluye su efecto. Esto sucede de acuerdo con [18, 23], quienes señalan que el Cu, al ser el principal agente activo, se presenta en una concentración que permite una acción más efectiva contra el hongo, mientras que el Zn en menor proporción complementa sin reducir la eficacia del Cu, de tal manera que adquieren una relación de sinergia entre estos.

El tratamiento de Cu_{75%}-Zn_{25%} a una dosis de 1 000 mg L⁻¹, mostró un efecto de inhibición similar al obtenido con un medio de cultivo con NPs de Cu a la misma dosis utilizada, sólo que un 0.4 % menos; con el mismo comportamiento y eficacia al contar con las propiedades fungistáticas aportadas por las NPs de Cu y aprovechar las propiedades antimicrobianas de las NPs de Zn, lo que genera un compuesto bimetálico funcional de acuerdo con [20, 23].

4.3.2 El efecto antifúngico *in vivo*

En el cuadro 4.5 se muestran los resultados obtenidos en la prueba *in vivo*, donde se observa el efecto de las NPs de Cu y la aleación de Cu_{75%}-Zn_{25%} a una concentración de 2 000 mg L⁻¹, en la disminución de la In, puesto que lograron un valor menor al 10%. Sin embargo, estos difieren en el valor de la Se, donde las NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%}, obtuvo un valor menor siendo más significativo con respecto al de Testigo control, que presentó una In del 100%. Los síntomas observados en las plantas tratadas con estas concentraciones de NPs fueron mínimos, manifestándose solo como manchas marrones en el tallo, en contraste con los severos daños vistos en el testigo control (figura 4.2).

Cuadro 4.5. Resultados obtenidos en la prueba *in vivo* de las NPs Cu-Zn frente FOL mediante Tukey ($p \leq 0.05$)

Tratamiento	Concentración (mg L ⁻¹)	In	Se
Cu	2 000	16.67	0.66 ± 0.33 ^a
	1 500	50.00	1.83 ± 0.30 ^{bc}
	1 000	50.00	2.83 ± 0.47 ^b
Cu _{75%} -ZnO _{25%}	2 000	16.67	0.50 ± 0.22 ^a
	1 500	33.33	1.33 ± 0.21 ^{cd}
	1 000	50.00	2.5 ± 0.34 ^b
Testigo control	---	100.00	5 ± 0.16 ^d
Testigo absoluto	---	0	0

*Plantas inoculadas con FOL sin adición de tratamientos a base de NPs. **Plantas no inoculadas y sin adición de tratamientos a base de NPs. In: Incidencia, Se: Severidad. Los datos se muestran con la media ± error estándar.



Tratamiento: a) Cu_{75%}-ZnO_{75%} a 2 000 mg L⁻¹; b) Cu a 2 000 mg L⁻¹; c) Cu_{75%}-ZnO_{75%} a 1 000 mg L⁻¹; d) Cu a 1 000 mg L⁻¹; e) Testigo absoluto; f) Testigo control.

Figura 4.2 Comparación visual del efecto antifúngico de las NPs a los 45 días post inoculación del FOL en planta

Las plantas del Testigo control mostraron una Se extrema, en una escala de Se de 5, lo que significa la muerte de las plantas. Las plantas tratadas con NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%} a las concentraciones de 1 000 hasta 2 000 mg L⁻¹, exhibieron síntomas muy leves, categorizándose mayoritariamente en niveles bajos de Se ≤1; esto indica que las NPs reducen la In de FOL y mitigan significativamente la gravedad de los síntomas cuando la enfermedad está presente de acuerdo con [18, 23]. Este efecto positivo de las NPs de Cu y Cu_{75%}-Zn_{25%} puede atribuirse a lo reportado por [24, 28], y que hacen referencia a las propiedades antimicrobianas de las NPs de Cu, ya que estas estructuras poseen la capacidad de penetrar las membranas celulares del patógeno y desactivar enzimas esenciales para su supervivencia, inhibiendo su capacidad de infección. Además, estas NPs pueden inducir resistencia sistémica en las plantas, activando defensas naturales que incluyen la producción de fitoalexinas y el fortalecimiento de las paredes celulares, dificultando así la penetración y propagación del FOL [23, 27].

Otro aspecto relevante de estos materiales es su composición, la cual es tóxica para el FOL y de liberación gradual, lo que proporciona una protección continua a las plantas. Además, la presencia de Zn en las NPs mixtas puede complementar las propiedades del Cu, lo que permite mejorar la eficacia general del tratamiento al catalogarse como compuestos preventivos y curativos [32, 33]. Estos hallazgos sugieren que las NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%} actúan mediante múltiples vías para proteger a las plantas de tomate del FOL. La acción combinada de las propiedades antimicrobianas del Cu, la liberación controlada de iones metálicos y la inducción de resistencia sistémica resulta en una protección robusta contra el patógeno [20]. Esta multifacética aproximación previene la infección inicial y reduce la Se de los síntomas en casos donde la infección ya está presente. La efectividad de las NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%} en este contexto destaca su potencial como herramienta valiosa en el manejo y control de este fitopatógeno; siempre y cuando el Cu este en mayor presencia puesto que de acuerdo con [18, 33] este asegura la eficiencia antifúngica y el tener una proporción menor de las NPs de Zn, estabiliza y evita posibles efectos tóxicos en la planta por una alta concentración de Cu.

Estos hallazgos sugieren que las NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%} poseen una sinergia, que de acuerdo con [18, 23] facilita la inhibición del FOL en las plantas por acción del Zn, al promover la interacción del Cu con las células fúngicas, lo que permite un ataque multifacético, prolongado y de liberación controlada, sin alterar la estabilidad del compuesto, ya que al estar en bajas proporciones el Zn, no interviene en la actividad antifúngica del Cu, facilitando la contención del FOL. Por lo que la efectividad de las NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%} en este contexto destaca como una herramienta valiosa en el manejo de este fitopatógeno.

4.4 Conclusiones

En la prueba *in vitro* la aleación de Cu_{75%}-Zn_{25%} a la concentración de 1 000 mg L⁻¹ demostró una eficacia con respecto al MIP superior al 90%, similar al resultado obtenido con las NPs de Cu al momento de inhibir el desarrollo del FOL; esto se debe a que esta combinación presente en la aleación, poseen un mayor acceso a las células fúngicas, lo que potencializa las propiedades fungistáticas del compuesto. En contraste, los tratamientos a base de Zn demostraron un comportamiento similar al Testigo control respecto al MIP, a pesar de usar concentraciones similares a las del Cu, el hongo demostró tolerancia a este compuesto.

Este efecto fue similar al observado en la prueba *in vivo*, donde esta misma aleación, pero a una concentración de 2 000 mg L⁻¹, logró reducir la In hasta en un 80% y Se del FOL en las plantas de tomate, al no infectar todas las estructuras y minimizar los daños ocasionados por este patógeno, lo que redujo el impacto de la enfermedad ocasionada por este patógeno, al inhibirlo de forma considerable, lo que demuestra el potencial fungistático de las NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%}.

En ambas fases este efecto presentado en esta aleación de Cu_{75%}-Zn_{25%}, se debe a la sinergia que existe entre esta proporción de Cu y el Zn, que potencializa la actividad antifúngica del Cu gracias a la estabilidad que ofrece al proporcionar una dispersión homogénea de las NPs, lo que generó una barrera y desarrolla un mecanismo de inhibición del FOL gracias a la acción de este compuesto bimetálico, con posibilidades de prevenir y controlar la enfermedad ocasionada por este patógeno, lo que minimizó el riesgo de toxicidad por la acumulación excesiva del Cu, sin comprometer la actividad antifúngica y sin afectar el desarrollo de las plantúlas.

4.5 Bibliografía

- [1] McGovern, R. J. (2015). Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop protection*, 73, 78-92. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.021>
- [2] Zhang, S., Sun, F., Liu, L., Bao, L., Fang, W., Yin, C., & Zhang, Y. (2020). Dragonfly-associated *Trichoderma harzianum* QTYC77 is not only a potential biological control agent of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* but also a source of new antibacterial agents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(48), 14161-14167. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05760>
- [3] Srinivas, C., Devi, D. N., Murthy, K. N., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B., et al. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity—A review. *Saudi journal of biological sciences*, 26(7), 1315-1324. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002>
- [4] Fernandes, J. C., & Henriques, F. S. (1991). Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *The botanical review*, 57, 246-273. <https://doi.org/10.1007/BF02858564>
- [5] Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., et al. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 8148-8162. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4496-5>
- [6] Mir, A. R., Pichtel, J., & Hayat, S. (2021). Copper: uptake, toxicity and tolerance in plants and management of Cu-contaminated soil. *Biometals*, 34(4), 737-759. <https://doi.org/10.1007/s10534-021-00306-z>
- [7] Rai, M., Bonde, S., Golinska, P., Trzcińska-Wencel, J., Gade, A., Abd-Elsalam, K. A., et al. (2021). *Fusarium* as a novel fungus for the synthesis of nanoparticles: mechanism and applications. *Journal of Fungi*, 7(2), 139 <https://doi.org/10.3390/jof7020139>
- [8] Cruz-Luna, A. R., Cruz-Martínez, H., Vásquez-López, A., & Medina, D. I. (2021). Metal nanoparticles as novel antifungal agents for sustainable agriculture: Current advances and future directions. *Journal of Fungi*, 7(12), 1033. <https://doi.org/10.3390/jof7121033>
- [9] Cruz-Luna, A. R., Vásquez-López, A., Rojas-Chávez, H., Valdés-Madrigal, M. A., Cruz-Martínez, H., & Medina, D. I. (2023). Engineered metal oxide nanoparticles as fungicides for plant disease control. *Plants*, 12(13), 2461. <https://doi.org/10.3390/plants12132461>
- [10] Malandrakis, A. A., Kavroulakis, N., & Chrysikopoulos, C. V. (2022). Metal nanoparticles against fungicide resistance: alternatives or partners?. *Pest Management Science*, 78(10), 3953-3956. <https://doi.org/10.1002/ps.7014>
- [11] Malandrakis, A. A., Kavroulakis, N., Avramidou, M., Papadopoulou, K. K., Tsaniklidis, G., & Chrysikopoulos, C. V. (2021). Metal nanoparticles: Phytotoxicity on tomato and effect on

symbiosis with the *Fusarium solani* FsK strain. *Science of The Total Environment*, 787, 147606. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147606>

[12] Shen, Y., Borgatta, J., Ma, C., Elmer, W., Hamers, R. J., & White, J. C. (2020). Copper nanomaterial morphology and composition control foliar transfer through the cuticle and mediate resistance to root fungal disease in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(41), 11327-11338. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04546>

[13] Kamel, S. M., Elgobashy, S. F., Omara, R. I., Derbalah, A. S., Abdelfatah, M., El-Shaer, A., et al. (2022). Antifungal activity of copper oxide nanoparticles against root rot disease in cucumber. *Journal of Fungi*, 8(9), 911.

[14] Elmer, W. H., Zuverza-Mena, N., Triplett, L. R., Roberts, E. L., Silady, R. A., & White, J. C. (2021). Foliar application of copper oxide nanoparticles suppresses *Fusarium* wilt development on chrysanthemum. *Environmental Science & Technology*, 55(15), 10805-10810. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c02323>

[15] Shams, A. H., Helaly, A. A., Algeblawi, A. M., & Awad-Allah, E. F. (2023). Efficacy of Seed-Biopriming with *Trichoderma* spp. and Foliar Spraying of ZnO-Nanoparticles Induce Cherry Tomato Growth and Resistance to *Fusarium* Wilt Disease. *Plants*, 12(17), 3117.

[16] Abdelaziz, A. M., Dacrory, S., Hashem, A. H., Attia, M. S., Hasanin, M., Fouda, H. M., et al. (2021). Protective role of zinc oxide nanoparticles-based hydrogel against wilt disease of pepper plant. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102083.

[17] Gaber, S. E., Hashem, A. H., El-Sayyad, G. S., & Attia, M. S. (2023). Antifungal activity of myco-synthesized bimetallic ZnO-CuO nanoparticles against fungal plant pathogen *Fusarium oxysporum*. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04550-w>

[18] López-Lima, D., Mtz-Enriquez, A. I., Carrión, G., Basurto-Cereceda, S., & Pariona, N. (2021). The bifunctional role of copper nanoparticles in tomato: Effective treatment for *Fusarium* wilt and plant growth promoter. *Scientia Horticulturae*, 277, 109810. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109810>

[19] Atiq, M., Naeem, I., Sahi, S. T., Rajput, N. A., Haider, E., Usman, M., & Qayyum, A. (2020). Nanoparticles: A safe way towards fungal diseases. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(17-18), 781-792. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1792599>

[20] Paraguay-Delgado, F., Hermida-Montero, L. A., Morales-Mendoza, J. E., Durán-Barradas, Z., Mtz-Enriquez, A. I., & Pariona, N. (2022). Photocatalytic properties of Cu-containing ZnO nanoparticles and their antifungal activity against agriculture-pathogenic fungus. *RSC advances*, 12(16), 9898-9908. <https://doi.org/10.1039/D2RA00863G>

[21] Malandrakis, A. A., Kavroulakis, N., & Chrysikopoulos, C. V. (2022). Zinc nanoparticles: Mode of action and efficacy against boscalid-resistant *Alternaria alternata* isolates. *Science of The Total Environment*, 829, 154638. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154638>

[22] Daniel, A. I., Keyster, M., & Klein, A. (2023). Biogenic zinc oxide nanoparticles: A viable agricultural tool to control plant pathogenic fungi and its potential effects on soil and plants. *Science of The Total Environment*, 165483. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165483>

[23] González-Merino, A. M., Hernández-Juárez, A., Betancourt-Galindo, R., Ochoa-Fuentes, Y. M., Valdez-Aguilar, L. A., & Limón-Corona, M. L. (2021). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles in *Fusarium oxysporum* - *Solanum lycopersicum* pathosystem under controlled conditions. *Journal of Phytopathology*, 169(9), 533-544. <https://doi.org/10.1111/jph.13023>

[24] Dhiman, S., Varma, A., Prasad, R., & Goel, A. (2022). Mechanistic insight of the antifungal potential of green synthesized zinc oxide nanoparticles against *Alternaria brassicae*. *Journal of Nanomaterials*, 2022, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2022/7138843>

[25] Tryfon, P., Kamou, N. N., Ntalli, N., Mourdikoudis, S., Karamanoli, K., Karfaridis, D., et al. (2022). Coated Cu-doped ZnO and Cu nanoparticles as control agents against plant pathogenic fungi and nematodes. *NanoImpact*, 28, 100430.

[26] Mohamed, A. A., Abu-Elghait, M., Ahmed, N. E., & Salem, S. S. (2021). Eco-friendly mycogenic synthesis of ZnO and CuO nanoparticles for *in vitro* antibacterial, antibiofilm, and antifungal applications. *Biological trace element research*, 199(7), 2788-2799. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02369-4>

[27] Abd El-Latef, E. A., Wahba, M. N., Mousa, S., El-Bassyouni, G. T., & El-Shamy, A. M. (2023). Cu-doped ZnO-nanoparticles as a novel eco-friendly insecticide for controlling

- Spodoptera littoralis*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 52, 102823. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102823>
- [28] El-Abeid, S. E., Mosa, M. A., El-Tabakh, M. A., Saleh, A. M., El-Khateeb, M. A., & Haridy, M. S. (2024). Antifungal activity of copper oxide nanoparticles derived from *Zizyphus spina* leaf extract against Fusarium root rot disease in tomato plants. Journal of Nanobiotechnology, 22(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02281-8>.
- [29] Ashraf, H., Anjum, T., Riaz, S., Ahmad, I. S., Irudayaraj, J., Javed, S., et al (2021). Inhibition mechanism of green-synthesized copper oxide nanoparticles from *Cassia fistula* towards *Fusarium oxysporum* by boosting growth and defense response in tomatoes. Environmental Science: Nano, 8(6), 1729-1748. <https://doi.org/10.1039/DoEN01281E>
- [30] Loza, K., Heggen, M., & Epple, M. (2020). Synthesis, structure, properties, and applications of bimetallic nanoparticles of noble metals. Advanced functional materials, 30(21), 1909260. <https://doi.org/10.1002/adfm.201909260>
- [31] Jomeyazdian, A., Pirnia, M., Alaei, H., Taheri, A., & Sarani, S. (2024). Control of Fusarium wilt disease of tomato and improvement of some growth factors through green synthesized zinc oxide nanoparticles. European Journal of Plant Pathology, 1-13 <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3214486/v1>.
- [32] Hermida-Montero, L. A., Pariona, N., Mtz-Enriquez, A. I., Carrión, G., Paraguay-Delgado, F., & Rosas-Saito, G. (2019). Aqueous-phase synthesis of nanoparticles of copper/copper oxides and their antifungal effect against *Fusarium oxysporum*. Journal of hazardous materials, 380, 120850. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120850>
- [33] Huynh, K. H., Pham, X. H., Kim, J., Lee, S. H., Chang, H., Rho, W. Y., & Jun, B. H. (2020). Synthesis, properties, and biological applications of metallic alloy nanoparticles. International Journal of Molecular Sciences, 21(14), 5174. <https://doi.org/10.3390/ijms21145174>

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, se concluye lo siguiente:

Respecto a la promoción de la germinación:

1. La síntesis de NPs de Cu-Zn en proporciones definidas permite que los materiales presenten relaciones entre proporción aparente y real similares, incluso cuando no todas sean perfectamente esféricas y contengan fases oxidadas de los elementos, como CuO y Cu₂O en el Cu, así como ZnO en el Zn. Estas fases no impidieron la formación de nanomateriales bimetálicos funcionales; por el contrario, la variedad de compuestos de Cu y Zn resultantes favoreció la eficiencia de las aleaciones. En las NPs de Cu puro se detectó la presencia de Cu metálico como resultado de la interacción con el medio acuoso durante

el proceso de síntesis.

2. En relación con la germinación, se observaron efectos positivos significativos en la Tg, el Iv, el Ig y el CVG con el tratamiento de Cu_{75%}-Zn_{25%} a 50 mg L⁻¹. Esto se atribuye a la mayor proporción de Cu, que facilitó condiciones óptimas para el inicio y desarrollo germinativo, mientras que el Zn apoyó el crecimiento inicial. Las variables morfométricas, tales como la longitud y peso de los brotes y raíces, también mejoraron. Además, no se observó que el tamaño de las NPs influyera en las variables. Este equilibrio entre Cu y Zn garantiza una germinación eficiente y el crecimiento de estructuras resistentes en entornos controlados; lo que demuestra la acción efectiva de estas NPs, ya que favorecen un proceso germinativo más efectivo y rápido, influyendo directamente en el desarrollo inicial de las semillas.

Respecto a los compuestos antifúngicos:

1. En la parte antifúngica, referente a la prueba *in vitro*, se demostró que la aleación de Cu_{75%}-Zn_{25%} a la concentración de 1 000 mg L⁻¹ mostró una eficacia superior al 90% con respecto al MIP, similar al resultado logrado con las NPs de Cu al inhibir el desarrollo del FOL. Esto se debe a que esta combinación presente en la aleación, posee un mayor acceso a las células fúngicas, lo que potencializa las propiedades fungicidas del compuesto. En contraste, los tratamientos a base de Zn mostraron una conducta similar al Testigo control con respecto a la inhibición del FOL

a pesar de utilizar concentraciones equiparables a las del Cu; el hongo mostró tolerancia a este compuesto

2. En la prueba *in vivo*, la aleación de Cu_{75%}-Zn_{25%}, pero a una concentración de 2 000 mg L⁻¹, logró reducir la In hasta en un 80% y la Se del FOL en las plantas de tomate, al no infectar todas las estructuras y minimizar los daños ocasionados por este patógeno, lo que redujo el impacto de la enfermedad ocasionada por este patógeno, al inhibirlo de forma considerable, lo que demuestra el potencial fungistático de las NPs de Cu_{75%}-Zn_{25%}.
3. En ambas fases, este efecto presentado en esta aleación de Cu_{75%}-Zn_{25%} se debe a la sinergia que existe entre esta proporción de Cu y el Zn, que potencializó la actividad antifúngica del Cu gracias a la estabilidad que ofrece al proporcionar una dispersión homogénea de las NPs. Esto generó una barrera y desarrolló un mecanismo de inhibición del FOL gracias a la acción de este compuesto bimetálico, con posibilidades de prevenir y controlar la enfermedad ocasionada por este patógeno. Asimismo, se minimizó el riesgo de toxicidad por la acumulación excesiva del Cu, sin comprometer la actividad antifúngica y sin afectar el desarrollo de las plántulas.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Ahmad, S. A., Das, S. S., Khatoon, A., Ansari, M. T., Afzal, M., Hasnain, M. S., & Nayak, A. K. (2020). Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 756-769. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2020.09.002>
- Ahmad, A. A., & Sarbon, N. M. (2021). A comparative study: Physical, mechanical and antibacterial properties of bio-composite gelatin films as influenced by chitosan and zinc oxide nanoparticles incorporation. *Food Bioscience*, 43, 101250. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101250>
- Arora, N., Thangavelu, K., & Karanikolos, G. N. (2020). Bimetallic nanoparticles for antimicrobial applications. *Frontiers in Chemistry*, 8, 412. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00412>
- Ashraf, H., Anjum, T., Riaz, S., Ahmad, I. S., Irudayaraj, J., Javed, S. & Naseem, S. (2021). Inhibition mechanism of green-synthesized copper oxide nanoparticles from *Cassia fistula* towards *Fusarium oxysporum* by boosting growth and defense response in tomatoes. *Environmental Science: Nano*, 8(6), 1729-1748.

- Atiq, M., Naeem, I., Sahi, S. T., Rajput, N. A., Haider, E., Usman, M., & Qayyum, A. (2020). Nanoparticles: A safe way towards fungal diseases. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(17-18), 781-792. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1792599>
- Baig, N., Kammakakam, I., & Falath, W. (2021). Nanomaterials: A review of synthesis methods, properties, recent progress, and challenges. *Materials Advances*, 2(6), 1821-1871. <https://doi.org/10.1039/D0MA00807A>
- Cammarano, D., Ronga, D., Di Mola, I., Mori, M., & Parisi, M. (2020). Impact of climate change on water and nitrogen use efficiencies of processing tomato cultivated in Italy. *Agricultural Water Management*, 241, 106336. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106336>
- Cotrina Cabello, G. G., Ruiz Rodriguez, A., Husnain Gondal, A., Areche, F. O., Flores, D. D. C., Astete, J. A. Q. & Cruz Nieto, D. D. (2023). Plant adaptability to climate change and drought stress for crop growth and production. *CABI Reviews*, 2023. <https://doi.org/10.1079/cabireviews.2023.0004>
- Cruz-Luna, A. R., Cruz-Martínez, H., Vásquez-López, A., & Medina, D. I. (2021). Metal nanoparticles as novel antifungal agents for sustainable agriculture: Current advances and future directions. *Journal of Fungi*, 7(12), 1033. <https://doi.org/10.3390/jof7121033>
- Cruz-Luna, A. R., Vásquez-López, A., Rojas-Chávez, H., Valdés-Madrigal, M. A., Cruz-Martínez, H., & Medina, D. I. (2023). Engineered metal oxide nanoparticles as fungicides for plant disease control. *Plants*, 12(13), 2461. <https://doi.org/10.3390/plants12132461>
- Daniel, A. I., Keyster, M., & Klein, A. (2023). Biogenic zinc oxide nanoparticles: A viable agricultural tool to control plant pathogenic fungi and its potential effects on soil and plants. *Science of The Total Environment*, 165483. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165483>

- Da Silva Oliveira, C. E., Zoz, T., Jalal, A., Vendruscolo, E. P., Nogueira, T. A. R., Jani, A. D., & Teixeira Filho, M. C. M. (2022). Tolerance and adaptability of tomato genotypes to saline irrigation. *crops*, 2(3), 306-322. <https://doi.org/10.3390/crops2030022>
- De la Rosa, G., López-Moreno, M. L., de Haro, D., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Effects of ZnO nanoparticles in alfalfa, tomato, and cucumber at the germination stage: root development and X-ray absorption spectroscopy studies. *Pure and Applied Chemistry*, 85(12), 2161-2174. <https://doi.org/10.1351/pac-con-12-09-05>
- De Oliveira, P. F., Torresi, R. M., Emmerling, F., & Camargo, P. H. (2020). Challenges and opportunities in the bottom-up mechanochemical synthesis of noble metal nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry A*, 8(32), 16114-16141. <https://doi.org/10.1039/D0TA05183G>
- De Souza, C. D., Nogueira, B. R., & Rostelato, M. E. C. (2019). Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. *Journal of Alloys and Compounds*, 798, 714-740. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.05.153>
- Dhiman, S., Varma, A., Prasad, R., & Goel, A. (2022). Mechanistic insight of the antifungal potential of green synthesized zinc oxide nanoparticles against *Alternaria brassicae*. *Journal of Nanomaterials*, 2022, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2022/7138843>
- Dimkpa, C. O., Deng, C., Wang, Y., Adisa, I. O., Zhou, J., & White, J. C. (2023). Chitosan and zinc oxide nanoparticle-enhanced tripolyphosphate modulate phosphorus leaching in soil. *ACS Agricultural Science & Technology*, 3(6), 487-498. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.3c00054>
- Duan, M., Jiang, L., Zeng, G., Wang, D., Tang, W., Liang, J., & Tang, L. (2020). Bimetallic nanoparticles/metal-organic frameworks: Synthesis,

applications and challenges. *Applied Materials Today*, 19, 100564.
<https://doi.org/10.1016/j.apmt.2020.100564>

Fahmy, S. A., Fawzy, I. M., Saleh, B. M., Issa, M. Y., Bakowsky, U., & Azzazy, H. M. E. S. (2021). Green synthesis of platinum and palladium nanoparticles using *Peganum harmala* L. seed alkaloids: Biological and computational studies. *Nanomaterials*, 11(4), 965.

Faizan, M., Bhat, J. A., Chen, C., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Ahmad, P., & Yu, F. (2021). Zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) induce salt tolerance by improving the antioxidant system and photosynthetic machinery in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 161, 122-130.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.002>

Ferreira, E., Kharisov, B., Vázquez, A., Méndez, E. A., Severiano-Carrillo, I., & Trejo-Durán, M. (2020). Tuning the nonlinear optical properties of Au@Ag bimetallic nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, 298, 112057.
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.112057>

Ghorbani, H. R., Mehr, F. P., Pazoki, H., & Rahmani, B. M. (2015). Synthesis of ZnO nanoparticles by precipitation method. *Orient. J. Chem*, 31(2), 1219-1221. <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/310281>

González-Merino, A. M., Hernández-Juárez, A., Betancourt-Galindo, R., Ochoa-Fuentes, Y. M., Valdez-Aguilar, L. A., & Limón-Corona, M. L. (2021). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles in *Fusarium oxysporum*-*Solanum lycopersicum* pathosystem under controlled conditions. *Journal of Phytopathology*, 169(9), 533-544. <https://doi.org/10.1111/jph.13023>

Guzmán, M. G., Dille, J., & Godet, S. (2009). Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *Int J Chem Biomol Eng*, 2(3), <https://doi.org/104-111>. 10.1016/j.nano.2011.05.007

Hussain, M. H., Abu Bakar, N. F., Mustapa, A. N., Low, K. F., Othman, N. H., & Adam, F. (2020). Synthesis of various size gold nanoparticles by chemical

reduction method with different solvent polarity. *Nanoscale research letters*, 15, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s11671-020-03370-5>

Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., & Bukhari, A. (2020). Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13(3), 223-245. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1802517>

Islam, M. A., Bhuiya, M. A. K., & Islam, M. S. (2014). A review on chemical synthesis process of platinum nanoparticles. *Asia Pacific Journal of Energy and Environment*, 1(2), 103-116. <https://doi.org/10.18034/apjee.v1i2.215>

Krishnia, L., Thakur, P., & Thakur, A. (2022). Synthesis of nanoparticles by physical route. In *Synthesis and applications of nanoparticles* (pp. 45-59). Singapore: Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-6819-7_3

Kutawa, A. B., Ahmad, K., Ali, A., Hussein, M. Z., Abdul Wahab, M. A., Adamu, A., et al. (2021). Trends in nanotechnology and its potentialities to control plant pathogenic fungi: A review. *Biology*, 10(9), 881. <https://doi.org/10.3390/biology10090881>

Lal, D., Dev, D., Kumari, S., Pandey, S., Aparna, Sharma, N., et al. (2024). *Fusarium* wilt pandemic: current understanding and molecular perspectives. *Functional & Integrative Genomics*, 24(2), 41. <https://doi.org/10.1007/s10142-024-01319-w>

Liu, P., Yang, M., Hermanowicz, S. W., & Huang, Y. (2022). Efficacy-associated cost analysis of copper-based nanopesticides for tomato disease control. *ACS Agricultural Science & Technology*, 2(4), 796-804. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.2c00098>

Loza, K., Heggen, M., & Epple, M. (2020). Synthesis, structure, properties, and applications of bimetallic nanoparticles of noble metals. *Advanced functional materials*, 30(21), 1909260.

- Lopez-Lima, D., Mtz-Enriquez, A. I., Carrión, G., Basurto-Cereceda, S., & Pariona, N. (2021). The bifunctional role of copper nanoparticles in tomato: Effective treatment for *Fusarium* wilt and plant growth promoter. *Scientia Horticulturae*, 277, 109810. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109810>
- Lv, J., Christie, P., & Zhang, S. (2019). Uptake, translocation, and transformation of metal-based nanoparticles in plants: recent advances and methodological challenges. *Environmental Science: Nano*, 6(1), 41-59. <https://doi.org/10.1039/C8EN00645H>
- Mackenzie, J. D., & Bescher, E. P. (2007). Chemical routes in the synthesis of nanomaterials using the sol–gel process. *Accounts of chemical research*, 40(9), 810-818. <https://doi.org/10.1021/ar7000149>
- Mahawar, L., Živčák, M., Barboricova, M., Kovár, M., Filaček, A., Ferencova, J., & Brestič, M. (2024). Effect of copper oxide and zinc oxide nanoparticles on photosynthesis and physiology of *Raphanus sativus* L. under salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 206, 108281. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108281>
- Malandrakis, A. A., Kavroulakis, N., & Chrysikopoulos, C. V. (2020). Synergy between Cu-NPs and fungicides against *Botrytis cinerea*. *Science of the total environment*, 703, 135557. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135557>
- Malandrakis, A. A., Kavroulakis, N., & Chrysikopoulos, C. V. (2022). Zinc nanoparticles: Mode of action and efficacy against boscalid-resistant *Alternaria alternata* isolates. *Science of The Total Environment*, 829, 154638. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154638>
- Malik, P., Shankar, R., Malik, V., Sharma, N., & Mukherjee, T. K. (2014). Green chemistry based benign routes for nanoparticle synthesis. *Journal of Nanoparticles*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/302429>

- Mittal, D., Kaur, G., Singh, P., Yadav, K., & Ali, S. A. (2020). Nanoparticle-based sustainable agriculture and food science: Recent advances and future outlook. *Frontiers in Nanotechnology*, 2, 579954. <https://doi.org/10.3389/fnano.2020.579954>
- Mohamed, A. A., Abu-Elghait, M., Ahmed, N. E., & Salem, S. S. (2021). Eco-friendly mycogenic synthesis of ZnO and CuO nanoparticles for in vitro antibacterial, antibiofilm, and antifungal applications. *Biological trace element research*, 199(7), 2788-2799. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02369-4>
- Mukah, F. E., Chinedu-Ndukwe, P. A., Imarhiagbe, O., & Nwaubani, D. A. (2023). Agrochemical use and emerging human and animal diseases. in one health implications of agrochemicals and their sustainable alternatives (pp. 53-76). Singapore: Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-3439-3_2
- Naz, S., Gul, A., & Zia, M. (2020). Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET nanobiotechnology*, 14(1), 1-13. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2019.0176>
- Nikam, A. V., Prasad, B. L. V., & Kulkarni, A. A. (2018). Wet chemical synthesis of metal oxide nanoparticles: a review. *CrystEngComm*, 20(35), 5091-5107. <https://doi.org/10.1039/C8CE00487K>
- Nikitin, D. A., Ivanova, E. A., Semenov, M. V., Zhelezova, A. D., Ksenofontova, N. A., Tkhakakhova, A. K., & Kholodov, V. A. (2023). Diversity, ecological characteristics and identification of some problematic phytopathogenic *Fusarium* in soil: a review. *Diversity*, 15(1), 49.
- Ouni, S., Askri, D., Jeljeli, M., Abdelmalek, H., Sakly, M., & Amara, S. (2020). Toxicity and effects of copper oxide nanoparticles on cognitive performances in rats. *Archives of environmental & occupational health*, 75(7), 384-394. <https://doi.org/10.1080/19338244.2019.1689376>

- Pan, C., Qian, J., Zhao, C., Yang, H., Zhao, X., & Guo, H. (2020). Study on the relationship between crosslinking degree and properties of TPP crosslinked chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 241, 116349. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116349>
- Panno, S., Davino, S., Caruso, A. G., Bertacca, S., Crnogorac, A., Mandić, A. & 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(11), 2188. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112188>
- Paraguay-Delgado, F., Hermida-Montero, L. A., Morales-Mendoza, J. E., Durán-Barradas, Z., Mtz-Enriquez, A. I., & Pariona, N. (2022). Photocatalytic properties of Cu-containing ZnO nanoparticles and their antifungal activity against agriculture-pathogenic fungus. *RSC advances*, 12(16), 9898-9908. <https://doi.org/10.1039/D2RA00863G>
- Paramo, L. A., Feregrino-Pérez, A. A., Guevara, R., Mendoza, S., & Esquivel, K. (2020). Nanoparticles in agroindustry: Applications, toxicity, challenges, and trends. *Nanomaterials*, 10(9), 1654. <https://doi.org/10.3390/nano10091654>
- Parashar, M., Shukla, V. K., & Singh, R. (2020). Metal oxides nanoparticles via sol–gel method: a review on synthesis, characterization and applications. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 31(5), 3729-3749.
- Perincherry, L., Urbaniak, M., Pawłowicz, I., Kotowska, K., Waśkiewicz, A., & Stępień, Ł. (2021). Dynamics of Fusarium mycotoxins and lytic enzymes during pea plants' infection. *International journal of molecular sciences*, 22(18), 9888. <https://doi.org/10.3390/ijms22189888>
- Phiwdang, K., Suphankij, S., Mekprasart, W., & Pecharapa, W. (2013). Synthesis of CuO nanoparticles by precipitation method using different precursors. *Energy procedia*, 34, 740-745. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2013.06.808>

- Rafique, M. S., Rafique, M., Tahir, M. B., Hajra, S., Nawaz, T., & Shafiq, F. (2020). Synthesis methods of nanostructures. In *Nanotechnology and Photocatalysis for Environmental Applications* (pp. 45-56). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821192-2.00003-6>
- Rai-Kalal, P., & Jajoo, A. (2021). Priming with zinc oxide nanoparticles improve germination and photosynthetic performance in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 160, 341-351. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.032>
- Raju, P., Deivatamil, D., Martin Mark, J. A., & Jesuraj, J. P. (2022). Antibacterial and catalytic activity of Cu doped ZnO nanoparticles: structural, optical, and morphological study. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 19(3), 861-872. <https://doi.org/10.1007/s13738-021-02352-3>
- Razavi, M., Salahinejad, E., Fahmy, M., Yazdimamaghani, M., Vashaei, D., & Tayebi, L. (2015). Green chemical and biological synthesis of nanoparticles and their biomedical applications. *Green processes for nanotechnology: From inorganic to bioinspired nanomaterials*, 207-235. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15461-9_7
- Reed, R. C., Bradford, K. J., & Khanday, I. (2022). Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. *Heredity*, 128(6), 450-459.
- Ro, S., Chea, L., Ngoun, S., Stewart, Z. P., Roern, S., Theam, P. & Prasad, P. V. (2021). Response of tomato genotypes under different high temperatures in field and greenhouse conditions. *Plants*, 10(3), 449. <https://doi.org/10.3390/plants10030449>
- Salabat, A., & Mirhoseini, F. (2018). A novel and simple microemulsion method for synthesis of biocompatible functionalized gold nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, 268, 849-853. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.07.112>

- Salama, D. M., Abd El-Aziz, M. E., Rizk, F. A., & Abd Elwahed, M. S. A. (2021). Applications of nanotechnology on vegetable crops. *Chemosphere*, 266, 129026. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129026>
- Salih, A. M., Qahtan, A. A., Al-Qurainy, F., & Al-Munqedhi, B. M. (2022). Impact of biogenic ag-containing nanoparticles on germination rate, growth, physiological, biochemical parameters, and antioxidants system of tomato (*Solanum tuberosum* L.) in vitro. *Processes*, 10(5), 825. <https://doi.org/10.3390/pr10050825>
- Salvador, M., Gutiérrez, G., Noriega, S., Moyano, A., Blanco-López, M. C., & Matos, M. (2021). Microemulsion synthesis of superparamagnetic nanoparticles for bioapplications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 427. <https://doi.org/10.3390/ijms22010427>
- Sardar, M., Ahmed, W., Al Ayoubi, S., Nisa, S., Bibi, Y., Sabir, M. & Qayyum, A. (2022). Fungicidal synergistic effect of biogenically synthesized zinc oxide and copper oxide nanoparticles against *Alternaria citri* causing citrus black rot disease. *Saudi journal of biological sciences*, 29(1), 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.067>
- Sistema de Información Agropecuaria (SIAP). 2023. Panorama Agroalimentario 2023. Dirección de Investigación y Evaluación económica y sectorial. https://drive.google.com/file/d/1FWHntHMgJw_uOse_MsOF9jZQDAm_FOD9/view?usp=sharing
- Sharma, D., Kanchi, S., & Bisetty, K. (2019). Biogenic synthesis of nanoparticles: a review. *Arabian journal of chemistry*, 12(8), 3576-3600. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.002>
- Singh, R. P., Handa, R., & Manchanda, G. (2021). Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. *Journal of controlled release*, 329, 1234-1248.
- Sumberg, J., & Giller, K. E. (2022). What is 'conventional' agriculture?. *Global Food Security*, 32, 100617. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2022.100617>

- Tao, H., Wu, T., Aldeghi, M., Wu, T. C., Aspuru-Guzik, A., & Kumacheva, E. (2021). Nanoparticle synthesis assisted by machine learning. *Nature reviews materials*, 6(8), 701-716. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00337-5>
- Taylor, A. G. (2020). Seed storage, germination, quality, and enhancements. In *The physiology of vegetable crops* (pp. 1-30). Wallingford UK: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781786393777.0001>
- Tryfon, P., Kamou, N. N., Mourdikoudis, S., Karamanoli, K., Menkissoglu-Spirodi, U., & Dendrinou-Samara, C. (2021). CuZn and ZnO nanoflowers as nano-fungicides against *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*: Phytoprotection, translocation, and impact after foliar application. *Materials*, 14(24), 7600. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2022.100430>
- Tryfon, P., Kamou, N. N., Ntalli, N., Mourdikoudis, S., Karamanoli, K., Karfaridis, D., et al. (2022). Coated Cu-doped ZnO and Cu nanoparticles as control agents against plant pathogenic fungi and nematodes. *NanoImpact*, 28, 100430.
- Tryfon, P., Sperdoui, I., Adamakis, I. D. S., Mourdikoudis, S., Moustakas, M., & Dendrinou-Samara, C. (2023). Impact of coated zinc oxide nanoparticles on photosystem II of tomato plants. *Materials*, 16(17), 5846. <https://doi.org/10.3390/ma16175846>
- Tsuzuki, T. (2021). Mechanochemical synthesis of metal oxide nanoparticles. *Communications Chemistry*, 4(1), 143. <https://doi.org/10.1038/s42004-021-00582-3>
- Vaidya, S., Deng, C., Wang, Y., Zuverza-Mena, N., Dimkpa, C., & White, J. C. (2024). Nanotechnology in agriculture: A solution to global food insecurity in a changing climate?. *NanoImpact*, 34, 100502. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2024.100502>

- Vanti, G. L., Masaphy, S., Kurjogi, M., Chakrasali, S., & Nargund, V. B. (2020). Synthesis and application of chitosan-copper nanoparticles on damping off causing plant pathogenic fungi. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 1387-1395. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.179>
- VS, S., Magar, S. J., & Somwanshi, S. D. (2024). *In vitro* antifungal efficacy of silver nanoparticles against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* in Tomato. *Microbiology Research Journal International*, 34(3), 1-9. <https://doi.org/10.9734/mrji/2024/v34i31432>
- Wang, Y., Deng, C., Shen, Y., Borgatta, J., Dimkpa, C. O., Xing, B. & Elmer, W. H. (2022). Surface coated sulfur nanoparticles suppress *Fusarium* disease in field grown tomato: Increased yield and nutrient biofortification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(45), 14377-14385. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c05255>
- Ying, S., Guan, Z., Ofoegbu, P. C., Clubb, P., Rico, C., He, F., & Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 102336. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102336>
- Zhao, X., Zhou, L., Riaz Rajoka, M. S., Yan, L., Jiang, C., Shao, D., et al. (2018). Fungal silver nanoparticles: synthesis, application and challenges. *Critical reviews in biotechnology*, 38(6), 817-835. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1414141>
- Zhao, X., Chen, Y., Li, H., & Lu, J. (2021). Influence of seed coating with copper, iron and zinc nanoparticles on growth and yield of tomato. *IET nanobiotechnology*, 15(8), 674-679. <https://doi.org/10.1049/nbt2.12064>

ANEXOS

I. Análisis de covarianza del efecto del tamaño en las variables de germinación evaluadas

Cuadro 1. Análisis de covarianza por variable correspondiente al error estándar tipo I.

Var	Origen	DF	EE tipo I	Cuadrados medios	Valor de F	Pr>F
Pg	Trat	20	1859.835714	92.991786	9.17	<.0001**
	Tm	46	395.969676	8.608036	0.85	0.6818 ^{ns}
Tg	Trat	20	0.14981607	0.0074908	0.84	0.6491 ^{ns}
	Tm	46	0.60168507	0.01308011	1.47	0.1965 ^{ns}
lg	Trat	20	0.30670095	0.01533505	6.48	<0.0001**
	Tm	46	0.10325418	0.00224466	0.95	0.5758 ^{ns}
lv	Trat	20	0.273195	0.01365975	5.66	0.0003*
	Tm	46	0.10154991	0.00220761	0.91	0.6115 ^{ns}
CVG	Trat	20	0.13746304	0.00687315	37.24	<.0001**
	Tm	46	0.01270763	0.00027625	1.5	0.1835 ^{ns}
Lb	Trat	20	87.46535714	4.37326786	27.62	<.0001
	Tm	46	5.406051	0.11752285	0.74	0.7921 ^{ns}
Pfb	Trat	20	0.33528	0.016764	20.38	<.0001**
	Tm	46	0.01551392	0.00033726	0.41	0.9915 ^{ns}
Psb	Trat	20	0.08064524	0.00403226	8.86	<.0001**
	Tm	46	0.01331453	0.00028945	0.64	0.8878 ^{ns}
Lr	Trat	20	102.3091905	5.1154595	34.87	<.0001**
	Tm	46	1.8496979	0.0402108	0.27	0.9998 ^{ns}

Pfr	Trat	20	0.57565929	0.02878296	35.95	<.0001**
	Tm	46	0.02568443	0.00055836	0.7	0.8353 ^{ns}
Psr	Trat	20	0.07370381	0.00368519	29.42	<.0001**
	Tm	46	0.00706563	0.0001536	1.23	0.3322 ^{ns}

EE: Error Estándar; Trat: Tratamiento; Var: Variables; Tm: Tamaño; Pg: Porcentaje de germinación; Tg: Tiempo de germinación; Ig: Índice de germinación; CVG: Coeficiente de velocidad de germinación; Iv: Índice de vigorosidad; Lb: Longitud de brote; Pfb: Peso fresco de brote; Psb: Peso seco de brote; Lr: Longitud de raíz, Pfr: Peso fresco de raíz; Psr: Peso seco de raíz. F: estadístico de prueba. Pr: Probabilidad. ^{ns}: No significativo, *: Significativo, **: Altamente significativo.

Cuadro 2. Análisis de covarianza por variable correspondiente al error estándar tipo II

Var	Origen	DF	EE tipo II	Cuadrados medios	Valor de F	Pr>F
Pg	Trat	19	838.1132654	44.1112245	4.35	0.0018*
	Tm	46	395.9696756	8.6080364	0.85	0.6818 ^{ns}
Tg	Trat	19	0.2083356	0.01096503	1.23	0.3369 ^{ns}
	Tm	46	0.60168507	0.01308011	1.47	0.1965 ^{ns}
Ig	Trat	19	0.15779494	0.008305	3.51	0.006*
	Tm	46	0.10325418	0.00224466	0.95	0.5758 ^{ns}
Iv	Trat	19	0.13498299	0.00710437	2.94	0.0148*
	Tm	46	0.10154991	0.00220761	0.91	0.6115
CVG	Trat	19	0.08845488	0.00465552	25.23	<.0001**
	Tm	46	0.01270763	0.00027625	1.5	0.1835 ^{ns}
Lb	Trat	19	28.59940998	1.5052321	9.51	<.0001**
	Tm	46	5.406051	0.11752285	0.74	0.7921 ^{ns}
Pfb	Trat	19	0.09500123	0.00500006	6.08	0.0002**
	Tm	46	0.01551392	0.00033726	0.41	0.9915 ^{ns}
Psb	Trat	19	0.0318026	0.00167382	3.68	0.0047*
	Tm	46	0.01331453	0.00028945	0.64	0.8878
Lr	Trat	19	45.83603125	2.4124227	16.44	<.0001**
	Tm	46	1.84969792	0.04021082	0.27	0.9998 ^{ns}
Pfr	Trat	19	0.2543102	0.01338475	16.72	<.0001**
	Tm	46	0.02568443	0.00055836	0.7	0.8353 ^{ns}
Psr	Trat	19	0.03047294	0.00160384	12.8	<.0001**
	Tm	46	0.00706563	0.0001536	1.23	0.3322 ^{ns}

EE: Error Estándar; Trat: Tratamiento; Var: Variables; Tm: Tamaño; Pg: Porcentaje de germinación; Tg: Tiempo de germinación; Ig: Índice de germinación; CVG: Coeficiente de velocidad de germinación; Iv: Índice de vigorosidad; Lb: Longitud de brote; Pfb: Peso fresco de brote; Psb: Peso seco de brote; Lr: Longitud de raíz, Pfr: Peso fresco de raíz; Psr: Peso seco de raíz. F: estadístico de prueba. Pr: Probabilidad. ^{ns}: No significativo, *: Significativo, **: Altamente significativo.