

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE MICROPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBRE SOBRE *Fusarium oxysporum*^a

IN VITRO EVALUATION OF COPPER OXIDE MICROPARTICLES ON *Fusarium oxysporum*

Rosas-Díaz, J.*; Cortés-Martínez, C.I.; Hernández-Sánchez, L.; Cruz-Martínez, H.

¹Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico del Valle de Etla, Abasolo S/N, Barrio del Agua Buena, Santiago Suchilquitongo 68230, México.

*E-mail: jesusita.rd@itvalletla.edu.mx

Fecha de envío: 20, mayo, 2025

Fecha de publicación: 20, septiembre, 2025

Resumen:

Los hongos fitopatógenos constituyen una amenaza significativa para la producción agrícola a nivel mundial, debido a su capacidad de provocar enfermedades severas en diversos cultivos, con consecuencias económicas significativas. *F. oxysporum* destaca entre los patógenos más agresivos por su impacto en cultivos de alto valor comercial. En el presente estudio se evaluó el efecto antifúngico de micropartículas de óxido de cobre (CuO), tamaño inferior a 10 µm sobre el crecimiento *in vitro* de *F. oxysporum* a concentraciones de CuO de 250, 500, 750, 1000 y 1250 ppm en medio de agar dextrosa papa. Los resultados evidenciaron una inhibición micelial progresiva con el aumento de la concentración, alcanzando hasta un 74 % de inhibición con 1250 ppm. Estos hallazgos sugieren que las micropartículas de CuO poseen un notable potencial antifúngico.

Palabras clave: Protección de cultivo, fungicidas, agroquímicos, enfermedades

Abstract:

Phytopathogenic fungi constitutes a threat for global agriculture due to their ability to cause severe diseases in numerous crops, leading to substantial economic losses. *F. oxysporum* is a pathogen that affects agricultural crops such as cotton, tomato, banana, among others. Currently, its control depends on the use of synthetic fungicides, which have limitations such as the development of resistance, negative environmental impacts, and risks to human health. In the present study the antifungal effect of copper oxide microparticles (CuO), smaller than 10 µm on the *in vitro* growth of *F. oxysporum* was evaluated at concentrations of 250, 500, 750, 1000, and 1250 ppm using a potato dextrose agar medium. The results showed progressive mycelial inhibition with increasing concentration, reaching up to 74% inhibition at 1250 ppm. These findings suggest that CuO microparticles possess significant antifungal potential.

Keywords: Crop protection, fungicides, agrochemicals, diseases

^a Tesis de doctorado en desarrollo

INTRODUCCIÓN

Los hongos fitopatógenos representan una de las principales amenazas para la producción agrícola a nivel mundial, ya que generan pérdidas económicas significativas y afectan tanto la calidad como la productividad de los cultivos (Agrios, 2005; Fones et al., 2020). Estos microorganismos pueden atacar una amplia variedad de especies vegetales, comprometiendo órganos esenciales como raíces, tallos, hojas y frutos, y manifestándose mediante síntomas característicos, tales como marchitez, manchas foliares, pudrición de tejidos y necrosis (Ray, 2024).

Entre los hongos fitopatógenos de mayor relevancia se encuentra *F. oxysporum*, ampliamente documentado por su capacidad para infectar diversos cultivos de importancia económica (Juarez-García et al., 2021; Rangel-Rodríguez et al., 2023). Por ejemplo, se ha documentado su impacto en el cultivo de algodón (*Gossypium* spp.), donde diferentes cepas de *F. oxysporum* causaron marchitez vascular en plántulas y plantas jóvenes, lo que provocó una reducción considerable en la densidad poblacional durante las etapas iniciales de desarrollo (Zhu et al., 2021). De manera similar, se han reportado infecciones en la hortaliza de tomate (*Solanum lycopersicum*), causado por *F. oxysporum* que provocan marchitez progresiva y amarillamiento foliar (Ravindra et al., 2015; Srinivas et al., 2019). Otro cultivo afectado por este hongo es el plátano (*Musa paradisiaca*), en el cual *F. oxysporum* f. sp. *cubense* es el agente causal de la enfermedad conocida como "mal de Panamá". Esta enfermedad, reportada en México y en diversas regiones del mundo, representa un desafío fitosanitario, ya que, una vez introducido el patógeno en los campos agrícolas, su erradicación y control resultan extremadamente difíciles (Ploetz, 2015).

Actualmente, este hongo se controla utilizando diversos fungicidas sintéticos comerciales, sin embargo, se ha documentado que estos productos pueden tener efectos negativos sobre el ambiente, la salud humana y desarrollan resistencia en los patógenos (Islam et al., 2024; Rahman y Zhang, 2018). Por lo tanto, es necesario establecer nuevas estrategias de menor impacto ambiental y más seguras para la salud de los agricultores. En este sentido, el uso de micro y nanomateriales ha emergido como una alternativa innovadora, eficaz y potencialmente más sostenible para el control de *F. Oxysporum*. Se han reportado diversos estudios sobre el uso de micropartículas y nanopartículas para el control de hongos fitopatógenos. Pariona et al., (2019) sintetizaron micropartículas de



0.2 y 0.5 μm mediante un método de síntesis verde, el cual fue evaluado *in vitro* contra *F. oxysporum*, logrando una inhibición del 100 % a una concentración de 1000 ppm. En otro estudio, se evaluó el efecto inhibitorio de nanopartículas de cobre sobre el crecimiento de *F. oxysporum*, obteniéndose una inhibición del 95 % a una concentración de 1000 ppm (Vera-Reyes et al., 2019).

Debido a estos resultados prometedores en el presente estudio se evaluó el efecto inhibitorio de micropartículas de óxido de cobre de menos de 10 μm sobre *F. oxysporum*, utilizando concentraciones de 250, 500, 750, 1000 y 1250 ppm en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizó medio agar dextrosa papa (PDA) y micropartículas comerciales de óxido de cobre (CuO) con un 98 % de pureza y un tamaño promedio menor a 10 μm . El material biológico *F. oxysporum* fue adquirido de la Colección de Cultivos Algae Bank (CCAB), con el registro CCAB 141/f.

Cultivo del hongo

El aislamiento de *F. oxysporum* se cultivó en medio PDA (39 g L^{-1}), conforme a las especificaciones del fabricante, y se incubó a $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 días para su posterior uso en los ensayos.

Preparación del medio con micropartículas de CuO

Se prepararon diferentes tratamientos de medio PDA con micropartículas de CuO en concentraciones de 250, 500, 750, 1000 y 1250 ppm. Como tratamiento de control, se utilizó PDA sin micropartículas. Para asegurar una distribución homogénea de las micropartículas en el medio de cultivo, estas se mezclaron con el medio PDA en matraces Erlenmeyer de 250 mL, y se sometieron a agitación magnética a 650 rpm durante 10 min. Posteriormente, las mezclas fueron esterilizadas en autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 15 lb pulg^{-2} de presión durante 15 min. Tras la esterilización, los matraces se agitaron nuevamente a 650 rpm durante 10 min para evitar la precipitación de las micropartículas (Figura 1).





Figura 1. Apariencia de los medios de PDA con micropartículas de óxido de cobre antes de verter en placas de Petri.

Figure 1. Appearance of PDA media with copper oxide microparticles before pouring into Petri dishes.

Posteriormente, se vertieron 20 mL de cada mezcla PDA-CuO en cajas Petri de 8.5 cm de diámetro, bajo condiciones estériles. Una vez solidificada la mezcla, se inoculó al centro de cada caja un disco de 5 mm de diámetro de un cultivo activo de *F. oxysporum* de 10 días de crecimiento micelial. Las placas inoculadas se incubaron en oscuridad a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 10 días. La actividad antifúngica se evaluó mediante la medición del crecimiento radial de *F. oxysporum* en los diferentes tratamientos, incluyendo el control (PDA sin micropartículas). Para cada concentración se realizaron cinco repeticiones. La evaluación se llevó a cabo al décimo día de incubación, cuando las colonias del tratamiento de control cubrieron completamente la superficie de la caja Petri. El diámetro de las colonias se midió utilizando un vernier digital. Los datos obtenidos fueron registrados en una base de datos y se utilizaron para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (IRG) mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IRG (\%)} = [(R1 - R2) / R1] \times 100$$

Donde: R1 representa el diámetro del crecimiento radial del hongo en el tratamiento control (sin micropartículas de CuO) y R2 corresponde al diámetro del crecimiento radial en presencia de las micropartículas de CuO. Este procedimiento se llevó a cabo de acuerdo con la metodología descrita por Pariona et al. (2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó el crecimiento radial de *F. oxysporum* en presencia de distintas concentraciones de micropartículas de CuO, y se observó una relación inversamente proporcional entre la concentración de CuO y el crecimiento micelial, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura (Cruz-Luna et al., 2023). Es decir, a menores concentraciones de micropartículas, el porcentaje de inhibición disminuyó. Después de 10 días, los diámetros del crecimiento micelial registrados para las concentraciones de 0, 250, 500, 750, 1000 y 1250 ppm fueron de 85, 81, 69, 30, 25 y 22 mm, respectivamente (Figura 2). Estos datos reflejan una inhibición progresiva del crecimiento de *F. oxysporum* con el incremento de la concentración de CuO.

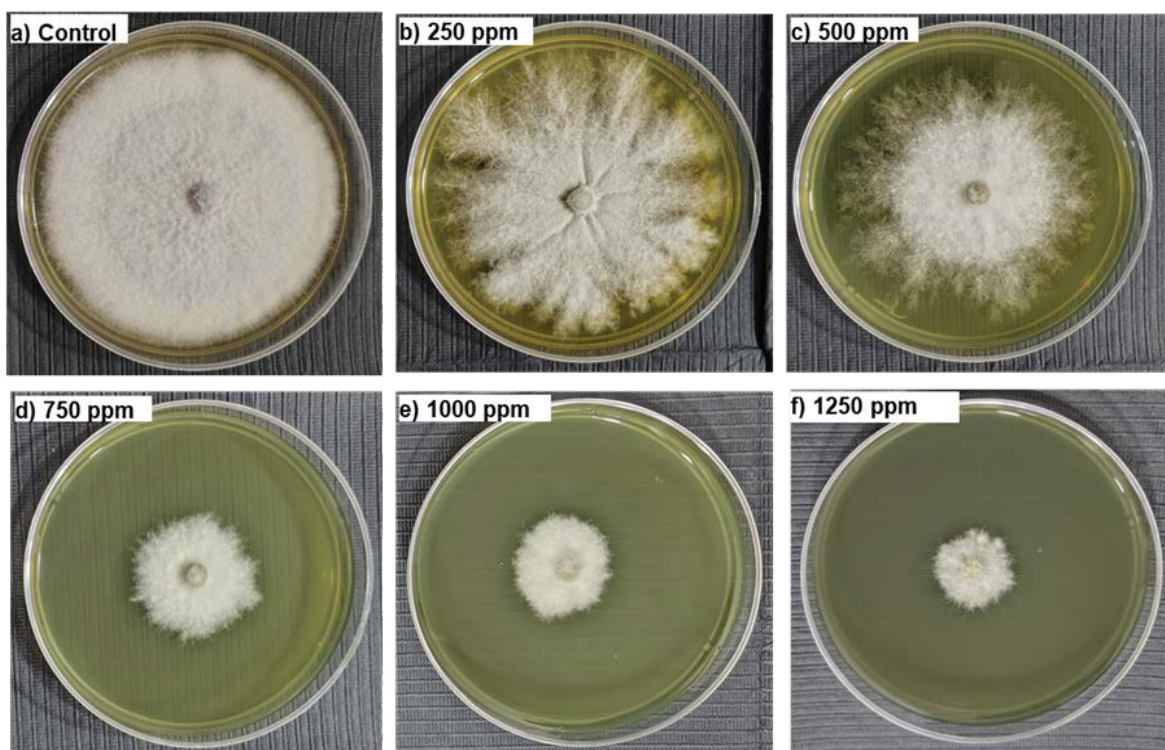


Figura 2. Crecimiento radial de *F. oxysporum* sobre medio PDA con diferentes concentraciones de micropartículas de óxido de cobre (CuO). (a) Control (sin micropartículas), (b) 250 ppm, (c) 500 ppm, (d) 750 ppm, (e) 1000 ppm y (f) 1250 ppm.

Figure 2. Radial growth of *F. oxysporum* on PDA medium with different concentrations of copper oxide (CuO) microparticles. (a) Control (without microparticles), (b) 250 ppm, (c) 500 ppm, (d) 750 ppm, (e) 1000 ppm and (f) 1250 ppm.

En cuanto al porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, se observaron valores de 4, 18, 64, 70 y 74 % para las concentraciones de 250, 500, 750, 1000 y 1250 ppm, respectivamente (Figura 3). La mayor inhibición se obtuvo a 1250 ppm, con un 74 %, mientras que la menor correspondió a 250 ppm, con solo el 4 % (Figura 3).

La disminución del crecimiento micelial sugiere que las micropartículas afectan la integridad estructural del hongo, posiblemente mediante alteraciones morfológicas y daño a las membranas celulares (Cruz-Luna et al., 2021). Aunque se obtuvieron buenos resultados de inhibición a 1250 ppm, los resultados obtenidos fueron menores que aquellos obtenidos por Pariona et al. (2021), en donde se reportó una inhibición de 100% a 1000 ppm utilizando micropartículas de 0.2 y 0.5 μm de cobre. Pero fueron cercanos a aquellos obtenidos por Vera-Reyes et al. (2019), donde se logró una inhibición de 95% usando nanopartículas de óxido de cobre de 46 nm a una concentración de 1000 ppm.

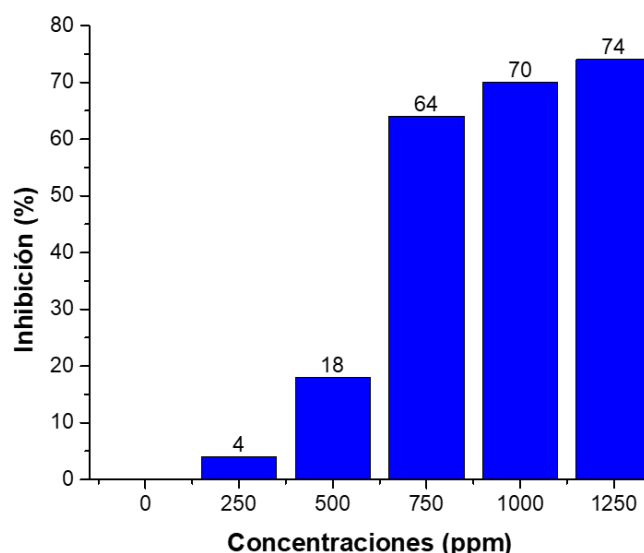


Figura 3. Variación del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* bajo diferentes concentraciones de micropartículas de óxido de cobre (CuO).

Figure 3. Variation of percentage inhibition of mycelial growth of *Fusarium oxysporum* at different concentrations of copper oxide (CuO) microparticles.

Los resultados obtenidos en la evaluación *in vitro* ofrecen una primera aproximación sobre el potencial uso de las micropartículas de CuO como fungicidas frente a *F. oxysporum*. Sin embargo, para obtener el desempeño real de los materiales evaluados, es necesario llevar a cabo una evaluación *in vivo* de las micropartículas estudiadas.

CONCLUSIÓN

Las micropartículas de óxido de cobre (CuO) presentan un efecto antifúngico significativo contra *F. oxysporum* bajo condiciones *in vitro*, el cual se encuentra directamente relacionado con la concentración aplicada. A medida que aumenta la concentración de CuO, se observa una reducción progresiva del crecimiento radial del hongo, alcanzando un porcentaje máximo de inhibición del 74 % con 1250 ppm.

Estos hallazgos preliminares son prometedores y alientan a continuar la investigación experimental bajo condiciones *in vivo* y así conocer el desempeño real de estos materiales para el control de fitopatógenos como *F. oxysporum*.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Tecnológico Nacional de México por el apoyo otorgado al proyecto “Desarrollo de nanofungicidas emergentes para el control de enfermedades en el cultivo de tomate: Una nueva ruta de producción”, clave 21846.25-P.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press.
- 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>
- Fones, H. N., Bebbber, D. P., Chaloner, T. M., Kay, W. T., Steinberg, G., & Gurr, S. J. (2020). Threats to global food security from emerging fungal and oomycete crop pathogens. *Nature Food*, 1(7), 332–342. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0085-9>
- Juárez-García, R. A., Sanzón-Gómez, D., Ramírez-Santoyo, L. F., Ruiz-Nieto, J. E., González-Castañeda, J., & Hernández-Ruiz, J. (2021). Áreas geográficas susceptibles a *Fusarium oxysporum* en el cultivo de fresa en Guanajuato, México. *Bioagro*, 33(1), 51–58. <https://revistas.uclave.org/index.php/bioagro/article/view/3022>
- Islam, T., Danishuddin, Tamanna, N. T., Matin, M. N., Barai, H. R., & Haque, M. A. (2024). Resistance mechanisms of plant pathogenic fungi to fungicide, environmental

- impacts of fungicides, and sustainable solutions. *Plants*, 13(19), 2737. <https://doi.org/10.3390/plants13192737>
- Pariona, N., Mtz-Enriquez, A. I., Sánchez-Rangel, D., Carrión, G., Paraguay-Delgado, F., & Rosas-Saito, G. (2019). Green-synthesized copper nanoparticles as a potential antifungal against plant pathogens. *RSC Advances*, 9(33), 18835–18843. <https://doi.org/10.1039/C9RA03110C>
- Ploetz, R. C. (2015). Management of Fusarium wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. *Crop Protection*, 73, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.007>
- Rahman, K. A., & Zhang, D. (2018). Effects of fertilizer broadcasting on the excessive use of inorganic fertilizers and environmental sustainability. *Sustainability*, 10(3), 759. <https://doi.org/10.3390/su10030759>
- Rangel-Rodriguez, L. S., Perez-Silva, A., Zavala-Guevara, M. D. J., Hernandez-Juarez, A. G., & Hernandez-Ruiz, J. (2023). Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenido de cultivos de *Solanum lycopersicum* en Irapuato, Guanajuato. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 21, 1-4.
- Ravindra, N. S., Naik, M. K., & Niranjana, S. R. (2015). Management of tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* using plant growth promoting rhizobacteria and organic amendments. *Biocontrol Science and Technology*, 25(11), 1240–1253. <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1030732>
- Ray, R. V. (2024). Effects of pathogens and disease on plant physiology. In *Agrrios' Plant Pathology* (pp. 63-92). Academic Press.
- Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B., Kalagatur, N. K., Niranjana, S. R., Hashem, A., & Alqaeawi, A. A. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: A special reference to its physiological races, virulence factors, and disease management strategies. *Microbial Pathogenesis*, 139, 103870. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103870>
- Vera-Reyes, I., Esparza-Arredondo, I. J. E., Lira-Saldivar, R. H., Granados-Echegoyen, C. A., Alvarez-Roman, R., Vázquez-López, A., ... & Díaz-Barriga Castro, E. (2019). *In vitro* antimicrobial effect of metallic nanoparticles on phytopathogenic strains of crop plants. *Journal of Phytopathology*, 167(7–8), 461–469. <https://doi.org/10.1111/jph.12818>
- Zhu, Y., Abdelraheem, A., Lujan, P., Idowu, J., Sullivan, P., Nichols, R., ... & Zhang, J. (2021). Detection and characterization of *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*) race 4 causing *Fusarium* wilt of cotton seedlings in New Mexico. *Plant Disease*, 105(11), 3353–3367. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-20-2174-RE>

