



UNL • FACULTAD DE
CIENCIAS AGRARIAS

**Trabajo Final Integrador para optar por el grado académico:
Especialista en Cultivos Intensivos**

***Incidencia de nanopartículas de cobre
en el control de canchrosis (*Xanthomonas citri*)
en plantas de limón (*Citrus limon*).***

Alumno: Ing. Agr. José Martín Valdéz

Director: Ing. Agr. (MsC.) Marcos Chabbal

Codirector: Ing. Agr. (Dra.) Alejandra Favaro

Esperanza, Santa Fe

Año 2025

INDICE GENERAL

	PAGINA
Resumen	1
Introducción	2
Identificación del problema	3
Factores determinantes del problema	4
Objetivo General	7
Objetivos Específicos	7
Metodología	7
Alternativas de solución	8
Plan de acción	11
Resultados preliminares y Conclusiones	12
Bibliografía	13
INDICE DE FIGURAS	
Figura 1. Síntomas de Cancrosis en hojas y tallos, en brotes y en frutos de limón de Limón 'Eureka'.	5
Figura 2. Hojas afectadas con minador (larva de minador y su galería) y consecuencias del ataque del minador para favorecer la entrada de Cancrosis b)	6
INDICE DE TABLAS	
Tabla 1 Tratamientos propuestos para el ensayo experimental sobre control de cancrrosis en limón (<i>Citrus limon</i> var. Eureka)	12

Resumen

Argentina se ubica entre los principales productores mundiales de cítricos, siendo esta actividad estratégica tanto para el mercado interno como para la exportación. Sin embargo, la sanidad del cultivo enfrenta serias amenazas, entre las cuales la cancrrosis, ocasionada por *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, constituye uno de los mayores desafíos. Esta enfermedad reduce el rendimiento y la calidad comercial de los frutos, además de imponer restricciones cuarentenarias que limitan el acceso a mercados internacionales. El control convencional se basa en aplicaciones intensivas de compuestos cúpricos, cuya eficacia es reconocida, pero cuyo uso continuo genera problemas ambientales, acumulación de residuos y riesgo de selección de cepas resistentes.

En este contexto, la nanotecnología ofrece una alternativa innovadora y sostenible. El presente trabajo se basó en una revisión bibliográfica orientada a reunir y analizar antecedentes sobre el uso de nanopartículas de cobre en el manejo de enfermedades vegetales. A partir de esta información, se elaboró el diseño hipotético de un ensayo de campo en plantas de limón (*Citrus limon* cv. Eureka), con diferentes dosis de nanopartículas de cobre aplicadas solas o en combinación con mancozeb, y comparadas frente al control convencional con oxiclورو de cobre y mancozeb. El esquema experimental propuesto considera un diseño en bloques completos al azar con repeticiones, y la evaluación de variables como incidencia y severidad de la enfermedad, posibles efectos fitotóxicos y rendimiento del cultivo.

Se espera que las nanopartículas permitan reducir significativamente las dosis de cobre sin comprometer la eficacia del control, aportando ventajas ambientales y productivas. Esta estrategia contribuiría a un manejo más sustentable de la cancrrosis, alineado con las demandas de mercados internacionales que priorizan la inocuidad y la reducción de insumos químicos. Los resultados esperados posicionan a las nanopartículas de cobre como una herramienta prometedora dentro de los programas de manejo integrado de cítricos, con potencial de fortalecer la competitividad del limón argentino en el comercio global.

Palabras clave: *Citrus limon*, cancrrosis de los cítricos, nanopartículas de cobre, nanotecnología, manejo sostenible.

1. Introducción

Durante la campaña 2022/2023, la producción mundial de frutas cítricas frescas alcanzó 103,9 millones de toneladas, siendo los principales productores China (39,7 millones Tn), Brasil (14,3 millones Tn) y la Unión Europea (15,6 millones Tn). Argentina ocupó el octavo lugar, con una producción de 3,88 millones de toneladas, lo que representa el 3,73% del total mundial. Particularmente, la provincia de Corrientes cuenta con 25.025 hectáreas implantadas, alcanzando una producción de 545.055 Tn. En cuanto al limón, el país produjo 2,315.427 toneladas, consolidándose como líder global y destinando 1,456.211 toneladas a la industria, 317.218 toneladas al consumo interno y 220.890 toneladas a la exportación en fresco. A nivel regional, el Noroeste Argentino concentra la mayor superficie implantada, principalmente en Tucumán, seguido por Salta y Jujuy, mientras que en el Nordeste se destacan Corrientes, Misiones y Entre Ríos, que en conjunto suman más de 142.000 hectáreas cultivadas. Los cítricos argentinos se exportaron en 2023 a más de 50 países, con destinos principales en Estados Unidos (26,6%), Rusia (16,1%), España (12,3%), Países Bajos (10,3%) e Italia (4,3%) (FEDERCITRUS, 2024).

Las frutas destinadas a la exportación deben cumplir estrictamente con requisitos fitosanitarios, entre los que se incluyen la ausencia de plagas y enfermedades que afecten su calidad, de acuerdo con lo establecido en la Resolución SAGPyA 38/98 (arts. 4 y 7) y la Resolución SENASA 28/2021 (art. 8.4).

La citricultura enfrenta limitaciones no solo por factores ambientales, sino también por el impacto de plagas y enfermedades, que ocasionan pérdidas económicas significativas (Zhang et al., 2012). Frente a esta problemática, resulta fundamental la supervisión constante del cultivo y la detección temprana de patógenos, con el fin de disminuir su incidencia (Martinelli et al., 2015). En cuanto a las enfermedades de origen fúngico, estas representan la mayoría de los agentes fitopatógenos que afectan al género *Citrus*, con manifestaciones que comprometen raíces, troncos, ramas, hojas y frutos (Baraona & Sancho, 2000; Showler, 2017; Zhao et al., 2015). Dentro de este grupo de patógenos se destacan la sarna de los cítricos (*Elsinoe* spp.) y la mancha negra (*Guignardia citricarpa*- *Phyllosticta citricarpa*) por ser enfermedades cuarentenarias para la exportación. Por otro lado, entre las enfermedades bacterianas más relevantes se encuentra la cancrrosis de los cítricos, producida por *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Esta bacteria ocasiona daños severos y constituye un factor crítico en la competitividad de las exportaciones, debido a las exigencias internacionales en materia de calidad e inocuidad de la fruta fresca (Asociación Tucumana de Citrus, 2005).

La cancrrosis de los cítricos afecta principalmente a especies cultivadas en condiciones tropicales y subtropicales (CIPF, 2016). Inicialmente se describieron distintos tipos de la enfermedad, y en la actualidad se reconoce que su origen está asociado a diversas variantes bacterianas. Estas se clasifican según características sintomáticas, rango de hospedantes, propiedades fisiológicas y culturales, sensibilidad a bacteriófagos, pruebas serológicas, así como análisis moleculares de RFLP y PCR (Gottwald et al., 2002). Los principales patotipos descritos incluyen: *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (grupo A); *Xanthomonas fuscans* subsp. *aurantifolii* (grupos B, C y D); y *Xanthomonas alfalfae* subsp. *citrumelonis* (grupo E) (Canteros, 1997; CIPF, 2016).

El uso intensivo de fitosanitarios ha permitido un control relativo de estas enfermedades, aunque con consecuencias negativas para el ambiente. Diversas investigaciones señalan la necesidad de implementar estrategias de manejo sostenible, tales como la selección adecuada de productos, la optimización de dosis y el cumplimiento de normas de Buenas Prácticas Agrícolas, orientadas a reducir el impacto ambiental y mejorar la inocuidad de los alimentos (Reascos Pardo & Castillo Criollo, 2019).

Identificación del problema

La cancrrosis de los cítricos, causada por *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (sinónimo *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Hasse) Vaut. = *X. campestris* pv. *citri* (Hasse) Day.), constituye una enfermedad endémica en las provincias del Litoral argentino y, más recientemente, se ha detectado en la región del Noroeste (NOA).

El primer registro en el país data de 1927, cuando se observó un foco de la enfermedad en la provincia de Corrientes, asociado al biotipo B. Posteriormente, en 1974, se detectaron infecciones por el tipo A y, hacia 1990, la enfermedad ya era considerada endémica en la región del Litoral. Su incidencia e intensidad varían según la susceptibilidad del hospedante, las condiciones ambientales y las prácticas de manejo aplicadas.

La relevancia de esta enfermedad radica principalmente en las restricciones cuarentenarias que impone para la exportación de fruta fresca hacia países libres de cancrrosis (Amancio et al., 2021). Entre las variantes, la cancrrosis A -también denominada asiática- es la forma más severa y ampliamente distribuida. Se encuentra presente en Brasil, Argentina, Paraguay, Uruguay, Japón, Taiwán, China, Irán, Francia, Estados Unidos (particularmente en Florida), así como en numerosos países del sudeste asiático.

Este patógeno afecta a la mayoría de las especies y cultivares de *Citrus*, incluyendo

pomelo (*C. paradisi* Macfadyen), lima Key (*C. aurantifolia* Swingle), limón (*C. limon* (L.) Burm.), naranja dulce (*C. sinensis* (L.) Osbeck), mandarina (*C. reticulata* Blanco), además de otros híbridos y especies relacionadas (De Carvalho et al., 2022).

Factores determinantes del problema

La bacteria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* penetra en los tejidos jóvenes de hojas, frutos y ramas a través de los estomas o de heridas causadas por tormentas, podas o insectos como el minador de los cítricos (*Phyllocnistis citrella*) (Gottwald et al., 2002). Una vez dentro, se multiplica y genera las clásicas lesiones corchosas conocidas como cancrrosis.

Las condiciones ambientales son determinantes en la intensidad de la enfermedad. Factores como la temperatura, la humedad relativa y, especialmente, la interacción entre lluvia y viento inciden en la diseminación del patógeno. Lluvias que provocan acumulación de agua en hojas y ramas, combinadas con vientos superiores a 28 km/h, favorecen la dispersión bacteriana (Gottwald et al., 2002). En el campo, las lesiones iniciales suelen hacerse visibles a partir de los 20 días de la fase de inoculación. La severidad en cada árbol y en los frutos depende de la temporada, siendo menor en primaveras con escasas lluvias. En este sentido, fenómenos climáticos como el ENSO están asociados a la variabilidad cíclica de la enfermedad (Canteros, 2001).

Los síntomas iniciales se manifiestan como lesiones pequeñas y circulares en hojas, brotes y frutos en desarrollo. Estas lesiones comienzan de color pardo claro, pero cambian conforme los tejidos maduran (Figura 1). Su presencia reduce la calidad comercial de los frutos, y en infecciones severas pueden ocasionar defoliación, debilitamiento de la planta y disminución de la producción (Ali et al., 2023).

El minador de los cítricos constituye un componente clave en el patosistema *X. citri*–*Citrus*. Si bien no actúa como vector, las heridas generadas por sus larvas facilitan la penetración del patógeno en el mesófilo, prolongando el período de susceptibilidad a la infección (Jesus Jr. et al., 2006; Gottwald et al., 2002; Hall et al., 2010). Los síntomas en hojas dañadas por minador suelen aparecer con mayor rapidez y severidad que aquellos producidos por penetración estomática (Figura 2).



Figura 1. Síntomas de Cancrosis en hojas y tallos, en brotes y en frutos (Martín Valdéz, material propio, 2023)

El impacto económico más relevante de la cancrrosis radica en las restricciones cuarentenarias impuestas a la exportación hacia países de la Unión Europea y Estados Unidos, pese a la falta de evidencia de que los frutos sean un medio efectivo de dispersión del patógeno (Canteros, 2004).

Con base en estudios de campo, se han desarrollado medidas de control que incluyen: el uso de cultivares menos susceptibles, la implantación de cortinas rompevientos, la aplicación de bactericidas a base de cobre y el control del minador de los cítricos (*P. citrella*) (Behlau et al., 2021a; Canteros et al., 2017; Favaro et al., 2017; Gottwald et al., 2002; Graham et al., 2011; Leite & Mohan, 1990; Stein et al., 2007).

Actualmente, el manejo integrado combina diversas estrategias para minimizar pérdidas. En viveros se realizan pulverizaciones cúpricas cada catorce días durante el período de crecimiento (agosto–abril), utilizando productos como sulfato de cobre tribásico, oxiclورو de cobre, hidróxido de cobre y óxido cuproso en formulaciones micronizadas. La adición de mancozeb resulta esencial para evitar el avance de cepas resistentes, detectadas por primera vez en Argentina en 1994 en la EEA INTA Bella Vista (Canteros, 2008). En paralelo, el control químico del minador mediante insecticidas como la abamectina constituye una medida clave para reducir la severidad de los brotes (Canteros et al., 2017; Diepenbrock et al., 2019; Stein et al., 2007).



Figura 2. Hojas afectadas con minador (larva de minador y su galería) y consecuencias del ataque del minador que favorecen la penetración de *X. citri* (Martín Valdéz, material propio, 2023).

En la región del Litoral, en plantas adultas de limón, se recomienda aplicar tratamientos cúpricos en los siguientes momentos críticos: (1) floración y primera brotación de la temporada, (2) postfloración (30–40 días después de la primera pulverización, con frutos de 1 cm), (3) frutos de 2–4 cm en estado susceptible y (4) frutos de 4–5 cm en estado susceptible (Canteros, 2009). En un estudio realizado en Tucumán, se determinó que el momento óptimo de aplicación de pulverizaciones cúpricas en hojas de limón corresponde al intervalo entre el inicio del alargamiento de brotes (3,6 cm de longitud) y los 14 días de edad (10,6 cm), resultados que concuerdan con experiencias previas en la región del Litoral (Velázquez, 2008). Para realizar los tratamientos, resulta importante considerar si las condiciones climáticas son propicias para el desarrollo de la enfermedad. Asimismo, se ha comprobado que la combinación de cortinas rompevientos con pulverizaciones cúpricas permite reducir significativamente la incidencia de la enfermedad en campo (Behlau et al., 2021b).

Una correcta técnica de aplicación es esencial para asegurar la cobertura total de

hojas y frutos. Para ello, se utilizan equipos de turbina, “speed-sprayer” o aplicaciones con manguera, evitando la falta de cobertura en ramas superiores, que podrían convertirse en fuentes de inóculo (Canteros, 2009).

En el marco de la tendencia global hacia una agricultura más sostenible, a nivel mundial se investiga el empleo de nanopartículas como alternativas al uso intensivo de pesticidas. Se ha demostrado que las nanopartículas de cobre poseen actividad antimicrobiana superior a las de óxido de zinc frente a *Xanthomonas axonopodis*, *Clavibacter michiganensis*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, así como a los hongos *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici*, en condiciones de laboratorio (Esparza-Rivera et al., 2014; Cui et al., 2021).

En base a la problemática y antecedentes presentados, en este trabajo se realizará una revisión bibliográfica sobre el uso de nanopartículas de cobre en el control de enfermedades. Con base en dicha revisión, se planteará el diseño hipotético de un ensayo a campo para evaluar su efecto sobre la canchrosis de los cítricos, sin implicar su ejecución práctica, como aporte inicial para la toma de decisiones en la región.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Analizar el potencial de las nanopartículas de cobre como alternativa sostenible para el manejo de la canchrosis de los cítricos, a partir de la información bibliográfica disponible.

2.2. Objetivos Específicos

- Revisar la información existente sobre la eficacia de nanopartículas de cobre en el control de enfermedades, en comparación con los productos convencionales.
- Proponer el diseño hipotético de un ensayo a campo que contemple distintas dosis de nanopartículas de cobre y su posible efecto sobre la canchrosis.

3. Metodología

Este trabajo se basará en una revisión bibliográfica orientada a reunir y sintetizar información disponible sobre el uso de nanopartículas de cobre en el control de enfermedades vegetales, con énfasis en canchrosis de los cítricos. La metodología incluirá:

- Consulta de bibliografía científica y técnica relacionada con nanopartículas de cobre y canchrosis de los cítricos.
- Análisis general de experiencias previas en interacciones planta-patógeno, considerando posibles ventajas frente a productos convencionales.

- Elaboración de una propuesta de ensayo hipotético, basada en los antecedentes revisados, que contemple diferentes dosis de nanopartículas de cobre y su potencial efecto sobre la enfermedad. Este diseño tendrá carácter exploratorio y no implicará la realización práctica del ensayo, sino que servirá como punto de partida para orientar futuras investigaciones.

4. Alternativas de solución

Como fue mencionado en la metodología, como punto de partida para proponer alternativas de solución, se reunieron antecedentes de aplicación de nanopartículas de cobre en diferentes interacciones planta-patógeno, y del efecto que puede tener la reducción de cobre aplicado sobre el patosistema.

Aplicación de nanopartículas de cobre en diferentes interacciones planta-patógeno

Diversos estudios han mostrado que las nanopartículas de cobre pueden ser eficaces en el manejo de enfermedades en cultivos, presentando propiedades antimicrobianas frente a hongos y bacterias, y ofreciendo ventajas ambientales y agronómicas como la reducción de dosis aplicadas y menor toxicidad para el ecosistema (Elmer et al., 2018; Li et al., 2022). La síntesis de nanopartículas de cobre puede realizarse mediante métodos químicos o biogénicos, incluyendo el uso de extractos vegetales o microorganismos, ofreciendo alternativas sostenibles frente a productos fitosanitarios convencionales, entre las que se destacan la reducción de la dosis de aplicación y menor impacto ambiental (Sawake et al., 2022; Ren et al., 2022; Chen et al., 2019; Haque et al., 2024; Pariona et al., 2019; Atiq et al., 2022; Waqif et al., 2024).

Sawake et al. (2022) sintetizaron nanopartículas de óxido de cobre usando dos agentes de biocontrol: *Trichoderma viride* y *Pseudomonas fluorescens*, para el control de *Phytophthora parasitica*, agente causal de la gomosis en cítricos. Los autores evaluaron su actividad antifúngica *in vitro* a concentraciones de 10 a 150 mg/L e *in vivo* a 100 mg/L. Las nanopartículas de óxido de cobre de *Trichoderma viride* mostraron inhibición máxima del crecimiento fúngico y protección significativa de las plantas frente al patógeno fúngico, superando la eficacia de la mezcla cúprica convencional.

Pariona et al. (2019) evaluaron nanopartículas de cobre frente a hongos fitopatógenos como *Fusarium solani*, *F. oxysporum* y *Neofusicoccum*. Observaron que las CuNPs inducen la generación de especies reactivas de oxígeno, alteraciones morfológicas en el micelio y pérdida de viabilidad de esporas. Estos efectos confirman que las

nanopartículas de cobre ejercen un modo de acción múltiple, diferente al de los fungicidas convencionales, y constituyen una alternativa prometedora en el manejo de enfermedades fúngicas en cultivos.

Chen et al. (2019) desarrollaron nanopartículas de óxido de cobre mediante síntesis verde a partir de extractos de hojas de papaya y evaluaron su eficacia frente a *Ralstonia solanacearum*, agente causal del marchitamiento bacteriano del tomate. En condiciones de laboratorio, las nanopartículas mostraron fuerte actividad antibacteriana, además de inhibir la formación de biofilm, reducir la motilidad bacteriana y alterar la producción de ATP. Observaciones por microscopía electrónica de transmisión revelaron daños estructurales severos en la membrana citoplasmática, asociados a la interacción con múltiples nanopartículas. A nivel molecular, se detectó una regulación negativa de genes vinculados a la patogenicidad y motilidad. En ensayos en invernadero, la aplicación por riego de raíces redujo significativamente la incidencia y el índice de severidad del marchitamiento bacteriano en tabaco, confirmando el potencial de estas nanopartículas como alternativa biocompatible para el manejo.

Ren et al. (2022) demostraron que las nanopartículas de cobre inducen daño a las paredes celulares y generación de especies reactivas de oxígeno en patógenos bacterianos, incluyendo *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, agente causal del cancro bacteriano del kiwi. Su estudio evidenció que, en algunos casos, las nanopartículas de cobre presentan mayor eficacia que el cobre tiodiazol comercial, sugiriendo un mecanismo de acción combinado de daño físico y estrés oxidativo.

Aplicación de nanopartículas de cobre para el control de *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

De manera específica frente a *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, agente causal de la canchrosis de los cítricos, los estudios reportan resultados prometedores.

Haque et al. (2024) desarrollaron nanopartículas de cobre a partir de extractos acuosos de cáscara de *Citrus reticulata* y las evaluaron frente a *Xanthomonas citri* pv. *citri*, observando inhibición del crecimiento bacteriano en condiciones de laboratorio. Los autores atribuyeron la eficacia de estas nanopartículas a compuestos fenólicos y flavonoides presentes en el extracto.

Atiq et al. (2022) sintetizaron nanopartículas de cobre y de plata a partir de hojas de *Eucalyptus globulus* y evaluaron su actividad antibacteriana frente a *Xanthomonas citri* pv.

citri, observando inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro* y reducción de lesiones foliares en plantas en cámaras de crecimiento.

Waqif et al. (2024) sintetizaron nanopartículas de cobre mediante macromoléculas algales y evaluaron su eficacia *in vitro* frente a *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, observando inhibición del crecimiento bacteriano. Este enfoque destaca por su sostenibilidad y potencial aplicación en la agricultura ecológica.

En un trabajo exploratorio no publicado, González (2019) evaluó dosis reducidas de nanopartículas de cobre (0,6 %) en combinación con mancozeb (2 %), encontrando niveles de control equivalentes a los obtenidos con aplicaciones de óxido cuproso al 1,5 %. Estos resultados preliminares sugieren que la nanotecnología basada en compuestos cúpricos permitiría reducir de manera significativa la cantidad de cobre aplicada en campo, sin comprometer la eficacia del control de la canchrosis.

Efecto de la reducción de la cantidad de cobre aplicado sobre el patosistema *Citrus* spp.-*X. citri*

Existen antecedentes previos que demuestran que la reducción en la cantidad de cobre aplicado al cultivo no compromete el control de canchrosis de los cítricos. Behlau et al. (2017) evaluaron diferentes combinaciones de volúmenes de pulverización y concentraciones de cobre metálico basadas en el volumen vegetativo en plantaciones comerciales de naranja. Los autores observaron que era posible disminuir la cantidad total de cobre aplicado por hectárea, manteniendo una eficacia de control comparable a la de los programas convencionales, lo cual representa un aporte importante hacia un uso más sostenible de este insumo.

Favaro et al. (2017) analizaron la relación entre el contenido de cobre en hojas de naranja, y la severidad de la canchrosis en tratamientos con diferentes productos cúpricos con distinta cantidad de cobre metálico. Los resultados mostraron que niveles elevados de cobre foliar no necesariamente se traducen en un mejor control de la enfermedad, lo que indica que la eficacia del control depende no solo de la concentración de cobre aplicada, sino también de factores como la distribución del producto en la plantación y la susceptibilidad de la población bacteriana.

Estos antecedentes refuerzan que si las nanopartículas de cobre permiten mantener o mejorar la eficacia con menores dosis, podrían incorporarse como una herramienta innovadora dentro de programas de manejo de canchrosis más eficientes, con menor impacto ambiental y menor riesgo de inducción de resistencia.

5. Plan de acción

En base a los antecedentes expuestos, el presente trabajo propone la implementación de un ensayo experimental destinado a evaluar la eficacia de las nanopartículas de cobre en el control de la canchrosis de los cítricos (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*) en limón (*Citrus limon* (L.) Osbeck). Este diseño es exploratorio y no se ejecutará, sirviendo como referencia para estudios futuros, que tendrían como finalidad generar información científica aplicable al manejo integrado de la enfermedad en la región cítrica del Litoral argentino. A continuación, se detallan los principales aspectos a tener en cuenta para el diseño del ensayo.

Ubicación y Material vegetal

El ensayo se llevará a cabo en el establecimiento cítrico Doña Sara, ubicado en la localidad de Santa Rosa, Departamento Concepción, provincia de Corrientes, Argentina. Se utilizarán plantas de limón variedad Eureka, reconocida por su susceptibilidad a la canchrosis, injertadas sobre el patrón Limón Rugoso (*Citrus jambhiri* Lush.). Las plantas tendrán cinco años de implantación, con un marco de plantación de 6 metros entre hileras y 4 metros entre plantas, lo que representa una densidad de 417 plantas por hectárea.

Diseño experimental

El ensayo se dispondrá bajo un diseño en bloques completos al azar, con cinco repeticiones por tratamiento. Cada unidad experimental estará conformada por un grupo de plantas distribuidas en parcelas homogéneas.

Tratamientos propuestos

Los tratamientos a evaluar incluirán:

- Testigo absoluto: sin aplicación de bactericidas.
- Tratamiento convencional: aplicaciones de oxiclورو de cobre + mancozeb en dosis comerciales.
- Nanopartículas de cobre – baja dosis.
- Nanopartículas de cobre – dosis media.
- Nanopartículas de cobre – dosis alta.

Tabla 1. Tratamientos propuestos para el ensayo experimental sobre control de canchros en limón (*Citrus limon* var. *Eureka*)

Tratamiento	Descripción	Producto aplicado	Dosis estimada	Observaciones
T1	Testigo absoluto	–	–	Sin aplicación de bactericidas
T2	Manejo convencional	Oxicloruro de cobre + Mancozeb	Dosis comerciales habituales	Tratamiento de referencia
T3	Nanopartículas de cobre – baja dosis	Cu-NPs	25% de la dosis estándar	Evaluar eficacia mínima
T4	Nanopartículas de cobre – dosis media	Cu-NPs	50% de la dosis estándar	Tratamiento intermedio
T5	Nanopartículas de cobre – dosis alta	Cu-NPs	100% de la dosis estándar	

Variables a evaluar

- Incidencia de la enfermedad: porcentaje de órganos vegetales afectados (hojas, brotes y frutos).
- Severidad de la enfermedad: evaluación de la intensidad de los síntomas en hojas y frutos mediante escalas diagramáticas.
- Fitotoxicidad: observación de posibles efectos adversos del tratamiento sobre el follaje y el crecimiento vegetativo.
- Rendimiento estimado: número y peso de frutos cosechados por planta al final de la campaña.

Análisis de datos

Los resultados obtenidos se analizarán mediante estadística descriptiva y análisis de varianza (ANOVA), complementado con pruebas de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0,05$).

6. Resultados esperados y Conclusiones

En base a la revisión bibliográfica realizada, las nanopartículas de cobre constituyen una alternativa innovadora y prometedora frente a los bactericidas convencionales en el manejo de la canchros de los cítricos, causada por *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Su elevada eficacia antimicrobiana, incluso a bajas concentraciones, permitiría reducir significativamente las dosis de cobre aplicadas en campo, disminuyendo la

acumulación de residuos en los frutos y mitigando el impacto ambiental asociado al uso intensivo de compuestos cúpricos tradicionales.

Los resultados previos obtenidos por otros grupos de investigación, junto con experiencias previas en otros cultivos, sugieren que la nanotecnología aplicada al control fitosanitario puede mejorar la eficiencia de las pulverizaciones, optimizar el aprovechamiento de los principios activos y ofrecer un enfoque más sostenible para la citricultura intensiva. Además, el empleo de nanopartículas de cobre contribuiría a retrasar la aparición de cepas bacterianas resistentes y a disminuir la dependencia de moléculas químicas como el mancozeb, cuyo uso presenta restricciones en mercados internacionales.

Desde el punto de vista productivo y económico, esta estrategia podría fortalecer la competitividad del limón argentino en los mercados de exportación, al asegurar frutas de mayor calidad sanitaria y con menores niveles de residuos, en línea con las exigencias de la Unión Europea y otros destinos de alto valor.

Finalmente, si bien la evidencia científica es alentadora, resulta indispensable validar estas tecnologías bajo condiciones de campo en diferentes regiones productoras, estableciendo protocolos de dosificación, frecuencia de aplicación y estrategias de integración con prácticas de manejo integrado de plagas y enfermedades. En este trabajo final de Especialización se realizó una propuesta de ensayo experimental para evaluar el efecto que podrían tener las nanopartículas de cobre en sistemas productivos regionales. La articulación entre investigación científica, sector productivo y políticas públicas será clave para consolidar el uso de nanopartículas de cobre como herramienta efectiva en la sanidad vegetal, contribuyendo al desarrollo de una citricultura más sustentable y competitiva.

7. Bibliografía

Ali, S., Hameed, A., Muhae-Ud-Din, G., Ikhlaiq, M., Ashfaq, M., Atiq, M., ... & Wang, Y. (2023). Citrus canker: a persistent threat to the worldwide citrus industry—an analysis. *Agronomy*, 13(4), 1112.

Amancio, L. C. S., Baia, A. D. B., Souza, E. B., Sales-Júnior, R., Negreiros, A. M. P., Balbino, V. Q., & Gama, M. A. S. (2021). First report of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* causing citrus canker on lime in Rio Grande Do Norte, Brazil. *Plant Disease*, 105(12), 4148.

Asociación Tucumana de Citrus. (2005). AACREA: tiempos difíciles para el limón. <http://www.atcitrusweb.com.ar/atcitrus/noticias/>. Acceso: 10 de mayo de 2023.

Atiq, M., Mazhar, H. M. R., Rajput, N. A., Ahmad, U., Hameed, A., Lodhi, A., ...

& Nawaz, A. (2022). Green synthesis of silver and copper nanoparticles from leaves of eucalyptus globulus and assessment of its antibacterial potential towards *Xanthomonas citri* pv. *citri* causing citrus canker. *Appl Ecol Environ Res*, 20(3), 2205-2213.

Baraona, C., & Sancho, S. (2000). Fruticultura especial: Cítricos. Ed. San José, Costa Rica. Universidad Estatal a Distancia. 96 p.

Behlau, F., Scandelai, L. H. M., da Silva Junior, G. J., & Lanza, F. E. (2017). Soluble and insoluble copper formulations and metallic copper rate for control of citrus canker on sweet orange trees. *Crop Protection*, 94, 185-191.

Behlau, F. (2021a). An overview of citrus canker in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 46(1), 1-12.

Behlau, F., Belasque Jr, J., Leite Jr, R. P., Filho, A. B., Gottwald, T. R., Graham, J. H., ... & Ayres, A. J. (2021b). Relative contribution of windbreak, copper sprays, and leafminer control for citrus canker management and prevention of crop loss in sweet orange trees. *Plant disease*, 105(8), 2097-2105.

Canteros, B. I. (1997). Cancrosis de los Cítricos. Hoja de Divulgación No 7. Pág. 1-2.

Canteros, B. I., Rybak, M., Gochez, A., Velazquez, P., Rivadeneira, M., Mitidieri, M., ... & Zequeira, L. (2008). Occurrence of copper resistance in *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in Argentina. *Phytopathology* (Vol. 98, No. 6, pp. S30-S31).

Canteros, B. I. (2001). Cancrosis de los citrus en el Litoral Argentino. Revista IDIA XXI (I): 23- 27.

Canteros, B. I. (2004, February). Management of citrus canker in Argentina. A review. In *Proc. Int. Soc. Citriculture* (Vol. 2, pp. 696-704).

Canteros, B. I. (2009). Guía para la Identificación y el Manejo de las Enfermedades Fúngicas y Bacterianas en Citrus. <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/1246>

Canteros, B. I., Gochez, A. M., & Moschini, R. C. (2017). Management of citrus canker in Argentina, a success story. *The plant pathology journal*, 33(5), 441.

Chen, J., Mao, S., Xu, Z., & Ding, W. (2019). Various antibacterial mechanisms of biosynthesized copper oxide nanoparticles against soilborne *Ralstonia solanacearum*. *RSC advances*, 9(7), 3788-3799.

CIPF (Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF). (2016). *Normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF)*. Roma, Italia: FAO.

Cui, B., Li, J., Lai, Z., Gao, F., Zeng, Z., Zhao, X., Liu, G., & Cui, H. (2021).

Emamectin benzoate-loaded zein nanoparticles produced by antisolvent precipitation method. *Polymer Testing*, 94,107020.

de Carvalho, D. U., Neves, C. S. V. J., da Cruz, M. A., Longhi, T. V., Behlau, F., de Carvalho, S. A., & Leite Junior, R. P. (2022). Late-season sweet orange selections under huanglongbing and citrus canker endemic conditions in the Brazilian humid subtropical region. *Frontiers in Plant Science*, 13, 915889.

Diepenbrock, L. M., Qureshi, J., Stelinski, L., & Stansly, P. A. (2019). 2019–2020 Florida Citrus Production Guide: Asian Citrus Psyllid: CG097/CG097, 3/2019. *EDIS*, 7-7.

Elmer, W., Ma, C., & White, J. (2018). Nanoparticles for plant disease management. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 6, 66-70.

Esparza-Rivera, J. R., et al. (2014). Antimicrobial activity of copper and zinc nanoparticles against phytopathogens. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 1–8.

Favaro, M. A., Roeschlin, R. A., Ribero, G. G., Maumary, R. L., Fernandez, L. N., Lutz, A., ... & Gariglio, N. F. (2017). Relationships between copper content in orange leaves, bacterial biofilm formation and citrus canker disease control after different copper treatments. *Crop Protection*, 92, 182-189.

FEDERCITRUS. (2024). Informe estadístico anual de la Federación Argentina del Citrus. <https://www.federcitrus.org/estadisticas/>

Gottwald, T. R., Graham, J. H., & Schubert, T. S. (2002). Citrus canker: The pathogen and its impact. *Plant Health Progress*, 3(1), 15.

Graham, J. H., Gottwald, T. R., Cubero, J., & Achor, D. S. (2011). *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*: Factors affecting successful eradication of citrus canker. *Molecular Plant Pathology*, 5(1), 1–15.

Hall, D. G., Gottwald, T. R., & Bock, C. H. (2010). Exacerbation of citrus canker by citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* in Florida. *Florida Entomologist*, 93(4), 558-566.

Haque, E., Hayat, A., & Afzaal, S. (2024). Copper nanoparticles (CuNPs) from Citrus (kinnow) waste and their antibacterial action against canker-causing *Xanthomonas citri*. *Journal of Hygienic Engineering & Design*, 48.

Jesus Jr., W. C., Belasque Júnior, J., Amorim, L., Christiano, R. S. C., Parra, J. R. P., & Bergamin Filho, A. (2006). Injuries caused by citrus leafminer (*Phyllocnistis citrella*) exacerbate citrus canker (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*) infection. *Fitopatologia Brasileira*, 31, 277-283.

Leite Jr, R. P., & Mohan, S. K. (1990). Integrated management of the citrus bacterial canker disease caused by *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in the State of Paraná,

Brazil. *Crop protection*, 9(1), 3-7.

Li, Y., Zhang, P., Li, M., Shakoor, N., Adeel, M., Zhou, P., ... & Rui, Y. (2023). Application and mechanisms of metal-based nanoparticles in the control of bacterial and fungal crop diseases. *Pest Management Science*, 79(1), 21-36.

Martinelli, F., Scalenghe, R., Davino, S., Panno, S., Scuderi, G., Ruisi, P., Villa, P., Stroppiana, D., Boschetti, M., Goulart, L. R., & Davis, C. E. (2015). Advanced methods of plant disease detection. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(1), 1–25. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0246-1>

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

Reascos Pardo, J. L., & Castillo Criollo, F. (2019). Buenas prácticas agrícolas. *Observatorio de la Economía Latinoamericana*, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

Ren, G., Ding, Z., Pan, X., Wei, G., Wang, P., & Liu, L. (2022). Evaluation of the abilities of three kinds of copper-based nanoparticles to control kiwifruit bacterial canker. *Antibiotics*, 11(7), 891.

SAGPyA. (1998). Resolución N.º 38/1998. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, Argentina.

Sawake, M. M., Moharil, M. P., Ingle, Y. V., Jadhav, P. V., Ingle, A. P., Khelurkar, V. C., ... & Gade, A. K. (2022). Management of *Phytophthora parasitica* causing gummosis in citrus using biogenic copper oxide nanoparticles. *Journal of Applied Microbiology*, 132(4), 3142-3154.

SENASA. (2021). Resolución N.º 28/2021. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Argentina.

Showler, A. T. (2017). Suppression of greasy spot disease caused by *Mycosphaerella citri* Whiteside on grapefruit trees in an organic orchard using an aqueous organic mixture of composted cornmeal, humic acid, molasses, and fish oil versus vegetable oil. *Crop Protection*, 99, 137-143.

Stein, B., Ramallo, J., Foguet, L., & Graham, J. H. (2007, December). Citrus leafminer control and copper sprays for management of citrus canker on lemon in Tucuman, Argentina. In *proceedings of the Florida state horticultural society* (Vol. 120, pp. 127-131).

Varympopi, A., Dimopoulou, A., Papafotis, D., Avramidis, P., Sarris, I.,

Karamanidou, T., ... & Skandalis, N. (2022). Antibacterial activity of copper nanoparticles against *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4080.

Velázquez, J. (2008). Momento óptimo de aplicación de pulverizaciones cúpricas para el control de la cancrrosis de los cítricos en hojas de limonero en Famaillá, Tucumán. *Horticultura Argentina* 27(64).

Waqif, H., Munir, N., Farrukh, M. A., Hasnain, M., Sohail, M., & Abideen, Z. (2024). Algal macromolecular mediated synthesis of nanoparticles for their application against citrus canker for food security. *International Journal of Biological Macromolecules*, 263, 130259.

Zhang, M., Powell, C. A., Guo, Y., Doud, M. S., & Duan, Y. (2012). A graft-based chemotherapy method for screening effective molecules and rescuing huanglongbing-affected citrus plants. *Phytopathology*, 102(6), 567-574.

Zhao, W., Bai, J., McCollum, G., & Baldwin, E. (2015). High incidence of preharvest colonization of huanglongbing-symptomatic *Citrus sinensis* fruit by *Lasiodiplodia theobromae* (*Diplodia natalensis*) and exacerbation of postharvest fruit decay by that fungus. *Applied and environmental microbiology*, 81(1), 364-372.