



Nanopartículas de iones de cobre para el control de *Fusarium sp.* en piña para exportación

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficiencia de soluciones de nanocobre como fungicida en el control de *Fusarium sp.*, en piñas para exportación de Ecuador. Las soluciones inhibitoras se obtuvieron mediante ionización electroquímica. Se aisló el *Fusarium sp.* de muestras de epicarpio de piña, para posteriormente medir el anillo de inhibición en placas Petri. Se prepararon soluciones de nanocobre a 3, 6 y 9 ppm. Las piñas se sometieron a desinfección mediante inmersión en estas soluciones durante 3, 6 y 9 min, siguiendo un diseño experimental de 3², con triplicados y controles con agua destilada. En este sentido, se evaluó el número de UFC/mL del hongo en la superficie de la fruta a los 0 días de inmersión y 5 días después de la inmersión. Los resultados muestran que, en lo referente al crecimiento del anillo de inhibición de *Fusarium sp.* en agar PDA, se redujo hasta un 53% cuando se utilizó una solución de nanopartículas de cobre a una concentración de 9 ppm, en comparación con el tratamiento control. En lo referente a la inhibición de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas mediante desinfección por inmersión, los mejores tratamientos para el día 0 de inmersión resultaron ser la desinfección durante 9 min en la solución de nanocobre a concentraciones de 6 y 9 ppm. Por su parte, para la desinfección de las piñas después del día 5 de la desinfección por inmersión, se establecieron cuatro opciones estadísticamente viables: desinfectar las piñas durante 9 min en soluciones de nanocobre a 6 o 9 ppm, o sumergir las piñas en solución a 9 ppm de nanocobre durante 6 o 9 min.

Palabras clave: *Fusarium*; higienización; inocuidad; calidad poscosecha; nanocobre.

Copper ion nanoparticles against *Fusarium sp.* in pineapple for export

Abstract

The aim of this study was to evaluate the efficiency of nanocopper solutions as a fungicide in the control of *Fusarium sp.* on pineapples for export in Ecuador. Inhibitory solutions were obtained by electrochemical ionisation. *Fusarium sp.* was isolated from pineapple epicarp samples and the inhibition ring caused by nanocopper solutions at 3, 6 and 9 ppm was measured in Petri dishes. Pineapples were also subjected to disinfection by immersion in these solutions for 3, 6 and 9 min, following an experimental design of 3², with triplicates and controls with distilled water. In this sense, the number of CFU/mL of the fungus on the surface of the fruit was evaluated the day of immersion (0 days) and 5 days after immersion. The results show that the growth of the inhibition ring of *Fusarium sp.* on PDA agar was reduced 53% when a solution of copper nanoparticles at a concentration of 9 ppm was used, compared to the control treatment. Regarding the inhibition of *Fusarium sp.* on the surface of disinfected pineapples by immersion, the best treatments in day 0 of immersion were disinfection for 9 min in the nanocopper solution with concentrations of 6 and 9 ppm. For the disinfection of the pineapples after 5 days of immersion, four statistically viable options were established: disinfecting the pineapples for 9 min in nanocopper solutions at 6 or 9 ppm, or immersing the pineapples in 9 ppm nanocopper solution for 6 or 9 min.

Keywords: *Fusarium*; higienization; innocuousness; postharvest quality; nanocopper.

Nanopartículas de íons de Cobre para o controle de *Fusarium sp.* em abacaxi para exportação

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de soluções de nanocobre como fungicida no controle de *Fusarium sp.* em abacaxis para exportação do Equador. As soluções inhibitoras foram obtidas por ionização eletroquímica. O *Fusarium sp.* foi isolado de amostras de epicarpo de abacaxi e o anel de inibição causado por soluções de nanocobre a 3, 6 e 9 ppm foi medido em placas de Petri. Os abacaxis foram também submetidos a desinfeção por imersão nestas soluções durante 3, 6 e 9 min, seguindo um desenho experimental de 3², com triplicados e controles com água destilada. Neste sentido, foi avaliado o número de UFC/mL do fungo na superfície do fruto no dia da imersão (0 dias) e 5 dias após a imersão. Os resultados mostram que o crescimento do anel de inibição de *Fusarium sp.* em agar PDA foi reduzido em até 53% quando se utilizou uma solução de nanopartículas de cobre a uma concentração de 9 ppm, em comparação com o tratamento de controle. Relativamente à inibição de *Fusarium sp.* na superfície dos abacaxis através da desinfeção por imersão, os melhores tratamentos para o dia 0 de imersão foram a desinfeção durante 9 min na solução de nanocobre nas concentrações de 6 e 9 ppm. Para a desinfeção dos abacaxis após 5 dias da desinfeção por imersão, foram estabelecidas quatro opções estatisticamente viáveis: desinfectando os abacaxis durante 9 min em soluções de nanocobre a 6 ou 9 ppm, ou imergindo os abacaxis em solução de nanocobre a 9 ppm durante 6 ou 9 min.

Palavras-chave: *Fusarium*; higienização; inocuidade; qualidade pós-colheita.



Introducción

Actualmente, aproximadamente el 40% de la producción de alimentos no se consume debido a la acción de patógenos, animales y plagas, lo que afecta gravemente la seguridad alimentaria. Las pérdidas más significativas se dan en productos hortícolas durante la etapa de poscosecha, principalmente debido a hongos y bacterias que, si no se controlan, provocan la descomposición de los productos [1].

La fusariosis es una infección patógena provocada por el género *Fusarium* sp. que causa pérdidas significativas en plantaciones a nivel mundial [2]. Esto hace necesario el uso de fungicidas en la industria agrícola para reducir las pérdidas en los cultivos e incrementar la producción de la materia prima esencial para la industria alimentaria. Estos fungicidas pueden ser de amplio espectro o específicos para determinados patógenos [3].

Desde el año 2000 a. C., el cobre se ha utilizado como antimicrobiano y ha sido fundamental como componente de fungicidas inorgánicos que frenan el crecimiento de patógenos y previenen enfermedades [4]. Khatami et al. [5] indican que soluciones de nanopartículas de óxido de cobre (CuO) pueden inhibir hasta un 90% el crecimiento de *Fusarium solani* con una concentración de 50 ppm, y un 20% con 5 ppm. Por su parte, Pham et al. [6] afirman que una concentración de 30 ppm de cobre puede inhibir completamente a *Fusarium oxysporum* en tres días y una de 7 ppm puede inhibir a *Phytophthora capsici* en un día.

Durante siglos, los iones metálicos, debido a sus propiedades antimicrobianas, se han utilizado para tratar quemaduras, heridas crónicas, sepsis, enfermedades venéreas y abscesos perianales; también se han utilizado para la conservación de alimentos y la desinfección de dispositivos médicos. Además, gracias a la nanotecnología, se ha incrementado la capacidad antimicrobiana de los iones metálicos al transformarlos en nanopartículas [7].

La capacidad antimicrobiana de los iones metálicos se basa en la deshidratación de la célula que ocurre debido a la unión del ion a la membrana celular del microorganismo, lo cual afecta su potencial dipolar [8]. Entre los usos de las nanopartículas metálicas se encuentra el tratamiento de aguas residuales y la desinfección de agua potable, en la cual se utilizan nanopartículas de cobre [9]. Algunos estudios han demostrado la capacidad de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO-NP) para controlar enfermedades fúngicas como *Fusarium oxysporum*, debido a su capacidad para distorsionar el micelio en crecimiento e inhibir directamente el crecimiento fúngico, también al eliminar micotoxinas como el ácido fusárico. Asimismo, la eficacia de ZnO-NP como antifúngico y antimicotoxina contra *Fusarium* sp. puede deberse al aumento de la peroxidación lipídica, los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el cambio en el contenido de ergosterol que altera la integridad de la membrana y la morfología de las macroconidias [10].

Además, muchos autores [11–14] sostienen que los iones de plata liberados por nanopartículas de plata (AgNPs) a través de la oxidación superficial son el mecanismo principal que induce citotoxicidad, genotoxicidad, respuestas inmunológicas en sistemas biológicos e incluso la muerte celular. Sambalé et al. [15] demostraron que el mecanismo de muerte celular es diferente cuando las células se cultivan con partículas o iones de plata. Las células tratadas con partículas experimentaron apoptosis, mientras que aquellas cultivadas con iones murieron de necrosis. También informaron que las AgNPs que se desplazan al citoplasma a través de la difusión o las proteínas de canal son oxidadas por enzimas citoplasmáticas, liberando así iones de plata. Estos iones pueden interactuar con los grupos tiol de las proteínas de la membrana mitocondrial, causando disfunción mitocondrial, produciendo ROS y provocando la descomposición de la función celular y el daño a los microorganismos [16].

Por otro lado, los iones de cobre también han demostrado su capacidad antifúngica. Se ha informado que el óxido de cobre biosintetizado con *Streptomyces* para el desarrollo de tejidos antimicrobianos en hospitales puede ayudar a prevenir o minimizar la infección por bacterias patógenas. Además, el cobre y el óxido de cobre con efectos antimicrobianos y antifúngicos pueden ser usados durante el envasado de alimentos para retrasar el crecimiento de gérmenes y hongos [17].

La aplicación de nanopartículas metálicas en la desinfección de frutas exportadas se ha aplicado durante muchos años. Por ejemplo, para el caso de la piña (*Ananas comosus*), que es una fruta económicamente significativa en países latinoamericanos, la fusariosis puede ocasionar pérdidas de entre el 30 y el 40% del fruto, o de aproximadamente el 20% de las plantaciones. Esto representa un problema grave para los países productores de piña como Ecuador, que se deben someter a estrictos controles sanitarios durante los procesos de exportación [18].

En 2020, el Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca informó que Ecuador fue el principal exportador de piñas en América del Sur y el octavo proveedor más grande a nivel mundial. Ecuador pasó de exportar 75.573 t en 2020 a 90.186 t para noviembre de 2021, por lo que la pérdida poscosecha de la piña es un problema sustancial para su mercado.

La descomposición fúngica es la principal causa del fracaso poscosecha de la piña. Esta descomposición depende de las condiciones climáticas y del sistema de manipulación poscosecha. La alta incidencia de enfermedades poscosecha en la piña se debe principalmente al hongo *Ceratocystis paradoxa* y *Fusarium* sp. Los hongos penetran principalmente por medio de las heridas causadas por el descabezado en los sistemas de manipulación poscosecha antes de la exportación [19].

El objetivo de este estudio es determinar el efecto de las nanopartículas de iones cobre para el control de *Fusarium* sp. con el fin de disminuir las pérdidas de piña de exportación por degradación fúngica. Para ello, se aplicó una solución de nanopartículas de iones de cobre como desinfectante en piñas durante la poscosecha y se evaluó la efectividad de las nanopartículas de cobre para inhibir el crecimiento y desarrollo de este hongo.

Materiales y métodos

La materia prima utilizada en el presente estudio consistió en muestras de piña (*Ananas comosus*) híbrida conocidas como “piña miel”, que se caracteriza por su color, dulzura y textura [20]. Los especímenes en buen estado fueron proporcionados por una empresa exportadora de piña en Ecuador y se seleccionaron según la normativa ecuatoriana NTE INEN 1836: FRUTAS FRESCAS. PIÑA [21]. Cuya clasificación es la siguiente:

- Nivel de madurez: 0
- Grado: extra
- Peso: mediano $1000 \leq m \leq 1500$ g
- Diámetro: mediano $110 \leq d \leq 120$ mm

Preparación de muestras

Las soluciones de nanocobre se prepararon mediante un proceso de ionización electroquímica utilizando un equipo NEC-4000. Para el desarrollo del estudio se seleccionaron piñas en buen estado visual y con características homogéneas en términos de madurez y tamaño. Las cáscaras de piña para el aislamiento del hongo *Fusarium* sp. se retiraron utilizando cuchillos esterilizados después de lavar las frutas con agua potable para eliminar cualquier residuo superficial. Una vez aislado el hongo se evaluó el anillo de inhibición causado por las soluciones de nanocobre a 3, 6 y 9 ppm de concentración, midiendo el diámetro promedio del mismo.

Adicionalmente, las soluciones de nanocobre en concentraciones de 3, 6 y 9 ppm se utilizaron para desinfectar las piñas mediante un proceso de inmersión de 3, 6 y 9 min (tiempo de residencia). Luego de cada tratamiento y un tiempo determinado de días posterior a la inmersión se tomó una porción de la superficie de cada muestra de piña y se sembró en medios de cultivo para cuantificar el *Fusarium sp.* El modelo de la investigación siguió un diseño experimental de 3² que incluyó diferentes combinaciones de concentraciones y tiempos de inmersión para evaluar su efectividad en la inhibición del crecimiento del hongo en la superficie del fruto. Como grupo de control se emplearon piñas tratadas con agua destilada para su desinfección, el tratamiento de la muestra fue similar a las que fueron tratadas con las soluciones de nanocobre.

Aislamiento de cepas

Castro y Umaña [22] mencionan la presencia de una gran variedad de hongos en la superficie de las frutas, por lo que, en esta investigación, se aisló el *Fusarium sp.* presente en las piñas visiblemente sanas proporcionadas por una empresa exportadora. Para ello se siguió la metodología mencionada por Umaña *et al.* [23], quienes señalan que para aislar el hongo se deben extraer 5 cm² de cáscara de piña y colocarla en un *beaker* que contenga 30 mL de agua destilada estéril con una gota de Tween 20 (polisorbato 20 que facilita la dispersión de tejidos y células evitando la aglomeración de partículas), y agitar durante 5 min con el objetivo de liberar los microorganismos presentes en la superficie. Posteriormente se utilizó el método de dilución seriada estándar con dos diluciones (10²) y se tomó de cada dilución una muestra de 100 µL para distribuir uniformemente sobre la caja Petri con medio de cultivo de agar de papa y dextrosa (PDA), utilizando un asa de Digrafsky.

Tinción de placas

Se prepararon laminillas (portaobjeto con cubreobjeto) siguiendo la metodología de López-Jácume *et al.* [24] para identificar microscópicamente las cepas fúngicas. Se colocó una gota de azul de lactofenol en un portaobjetos, se seleccionó la cepa a analizar y, con la ayuda de un asa esterilizada, se tomó una muestra de micelio de la placa de Petri y se depositó en la gota mencionada anteriormente. Finalmente, se observó la estructura del hongo en el microscopio, los macroconidios y los microconidios, para determinar a qué género pertenecía [25].

Caracterización de los síntomas de fusariosis en las piñas

Mediante la inspección visual, se realizó una caracterización detallada de la sintomatología asociada a la fusariosis en los frutos de piña. Esto permitió confirmar la infección por *Fusarium sp.* en las piñas utilizadas en esta investigación, asegurando que los frutos analizados presentaban la enfermedad y eran adecuados para su uso en el estudio.

Preparación de las muestras de estudio

Para reducir los microorganismos competidores en la superficie de las muestras de piña, se desinfectaron y eliminaron los restos de la corona y el pedúnculo, también se lavó y se retiró toda la materia extraña con una solución jabonosa. Finalmente, se sumergieron en un recipiente que contenía alcohol etílico a 99° GL durante 3 min, utilizando movimientos rotativos para que el alcohol estuviera en contacto permanente con toda la superficie. Las piñas se dejaron reposar en una cámara de flujo laminar con luz natural y ventilación durante 15 min para evaporar el exceso de alcohol [26].

Inoculación del hongo

Las piñas que se sometieron a inhibición por inmersión en las soluciones de nanocobre se colocaron en una cámara de flujo laminar para proceder con la inoculación del hongo previamente aislado.

Con la ayuda de una aguja se realizaron unas heridas, se tomó una muestra del hongo (*Fusarium sp.*) aislado de las placas de Petri y se colocó en la superficie de la piña. El procedimiento se repitió en otro lugar de la fruta paralelo al primero ya inoculado, uno cerca de la corona y otro cerca del pedúnculo. Se dejó una piña no inoculada como muestra de control. Las piñas inoculadas se almacenaron en una cámara húmeda, donde el hongo pudo crecer bajo condiciones de humedad y temperatura ambiente durante un período mínimo de 4 días, después de este tiempo se procedió a las pruebas de inhibición durante diferentes tiempos de inmersión y evaluando el crecimiento de hongo a los 0 y 5 días de inmersión.

Preparación de soluciones de nanopartículas de cobre

Las soluciones de nanopartículas de iones de cobre se generaron utilizando el sistema de ionización electroquímica NEC-4000, diseñado para la producción de agua ionizada con cobre. El proceso empleó agua destilada, que fue ionizada mediante la transferencia controlada de iones de cobre en el equipo, siguiendo la metodología especificada por el fabricante. El sistema electroquímico cuenta con un microprocesador electrónico y electrodos de intercambio, que libera iones de cobre bajo la aplicación de una corriente continua. Con el objetivo de asegurar un flujo constante y uniforme de agua a través del equipo se utilizó una bomba peristáltica, lo que permitió la ionización precisa del agua a las concentraciones deseadas de 3, 6 y 9 ppm de nanocobre, utilizando un espectrofotómetro ultravioleta visible para cuantificar su concentración.

Evaluación del nanocobre en la inhibición del hongo

De acuerdo con las indicaciones descritas por Gutiérrez *et al.* [25], con algunas variaciones, se llevó a cabo esta parte de la evaluación. Una vez obtenidas las soluciones en las tres concentraciones de nanocobre, se calculó la cantidad de PDA para la inoculación. Se utilizó una marca comercial de agar TM MEDIA con certificación ISO 9001:2015, que establece que deben usarse 39 g para preparar 1 L de cultivo líquido, y se realizó la práctica por triplicado para cada una de las tres concentraciones de nanocobre, por lo tanto, para calcular la cantidad de agar líquido requerido se siguió la información de la **tabla 1**.

Tabla 1. Datos para la preparación del medio de cultivo.

Concentración de cobre (ppm)	Replicas	Cantidad de agar líquido por placa (mL)	Cantidad total de agar líquido (mL)
3	3	20	60
6	3	20	60
9	3	20	60

Las muestras de control no fueron sometidas a inmersión en soluciones de nanocobre, fueron tratadas únicamente con agua destilada para establecer un marco referencial con el objetivo de evaluar la eficiencia de las soluciones de 3, 6 y 9 ppm en el anillo de inhibición del crecimiento de *Fusarium sp.* Cada placa Petri requirió 20 mL de agar líquido, por lo que se utilizaron 60 mL para cada concentración de nanocobre.

Todos los medios preparados, junto con los testigos, se esterilizaron en autoclave para eliminar cualquier presencia de microorganismos y obtener un cultivo estéril. Inmediatamente después de la esterilización, se realizó el plaqueo para evitar que los medios se solidificaran antes de tiempo.

Siembra del hongo

Se aplicó la metodología descrita por Nieto y Bailón [28], tomando como referencia 20 mL de medio de cultivo PDA por placa de Petri. Una vez que se plaquearon todas las concentraciones de nanocobre en las placas Petri, se permitió que el medio de cultivo se solidificara, evitando movimientos bruscos y con contacto mínimo para evitar cualquier contaminación.

Con la ayuda de un asa se extrajo un disco de micelio del hongo y se sembró en el centro de la placa, evitando el contacto con la superficie restante del agar, con el fin de obtener buenos resultados y evitar la propagación del hongo. Durante cada siembra se esterilizó el asa mediante la llama del mechero para evitar la contaminación por contacto.

Cálculo del porcentaje de inhibición

Para calcular el porcentaje de inhibición se tomó como referencia el diámetro de crecimiento de la cepa inoculada y se contrastó con el diámetro de la muestra de control o sin tratar, para ello se utilizó la Ec. (1) [29]:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{DC-DT}{DC} \times 100$$

Donde DC es el diámetro de la muestra de control y DT el diámetro de la muestra inoculada. Las mediciones a los diámetros de las colonias se hicieron cada dos días utilizando un calibre. La medición finalizó cuando la muestra de control cubrió toda la superficie de la placa de Petri.

Desinfección de piñas por inmersión

Se utilizaron tres tiempos de inmersión (3, 6 y 9 min) y tres concentraciones (3, 6 y 9 ppm) para el proceso de desinfección por inmersión de las piñas. Se emplearon nueve recipientes para lavar y desinfectar diferentes frutas con tres diferentes concentraciones y en tres tiempos de inmersión. Cada uno contenía una concentración determinada en orden ascendente. De esta manera, una piña se sumergía en el recipiente correspondiente con una concentración y durante el tiempo establecido hasta que se utilizaron nueve piñas, además de la muestra de control, que fue sumergida únicamente en agua destilada, en duplicado, como se describe en la **tabla 2**.

Una vez finalizada la desinfección por inmersión durante los tiempos antes mencionados (3, 6 y 9 min), se realizó un enjuague breve con agua destilada esterilizada, 100 mL para cada tratamiento, sobre toda la superficie de la piña, considerando que el agua estaba en contacto con el tallo, la corona y la cáscara. Después de este procedimiento se realizó inmediatamente (0 días) un hisopado de la superficie de las piñas para contar el hongo, luego cada piña se almacenó herméticamente para volver a cuantificar el hongo en la superficie de las nueve piñas después de 5 días.

Tabla 2. Número de piñas por tratamiento aplicado.

Tiempo (min)	Concentración (ppm)		
	3	6	9
3	1**	2**	3**
6	4**	5**	6**
9	7**	8**	9**

Cada número indica el número del tratamiento o unidad de piña utilizada. Se deben contar dos piñas adicionales utilizadas en el tratamiento de control (0). Los asteriscos (*) señalan diferencias significativas entre los tratamientos.

Control del hongo en la superficie de las piñas mediante placas Petrifilm®

Se utilizaron placas 3M Petrifilm® para colocar el hisopado de las superficies de las piñas y poder contar las unidades formadoras de colonias (UFC) del hongo durante el día 0, en los diferentes tiempos de inmersión y concentraciones de nanocobre, siguiendo la Guía de Información de 3M Petrifilm® [30]. El conteo del hongo se volvió a realizar 5 días después de la inmersión de las piñas en las soluciones tratadas con nanocobre.

Resultados y discusión

Se identificó macro y microscópicamente la presencia del hongo *Fusarium sp.*, de acuerdo a las características reportadas por Salazar et al. [31] y Hernández et al. [32], quienes mencionan que sus colonias aisladas en medio PDA al comienzo son lisas y algodonosas, posteriormente se tornan un poco lanosas, de coloración blanca en la parte superior y en la parte inferior de coloración grisácea, tal como se observa en la **figura 1** (identificación macroscópica). Por su parte, a nivel microscópico las colonias presentaron conidios abundantes.



Figura 1. Aislamiento del hongo *Fusarium sp.* obtenido de la superficie de la piña.

Los síntomas de la enfermedad que presentaron los frutos consistieron en pequeñas manchas irregulares de color café claro en el pericarpio y un color miel claro en la pulpa. A medida que la enfermedad progresaba, las manchas se volvieron color café oscuro, el área necrosada aumentó y el tejido afectado adquirió una apariencia flácida y húmeda. Se observó que las lesiones fueron superficiales, aunque algunas se extendieron hasta el centro de la fruta, provocando la pérdida de rigidez y la decoloración de la pulpa. Con el avance de la enfermedad, las manchas se extendieron y la pulpa mostró una clara maceración de los tejidos. En los tejidos lesionados apareció un micelio de color blanco.

El análisis de los datos obtenidos se realizó con ayuda al software Statgraphics Centurion versión 19.3.03, en donde se llevaron a cabo pruebas de varianza ANOVA, de las que se esperaba un valor $p \leq 0,05$. Se obtuvieron las desviaciones estándar y se realizaron pruebas de múltiples rangos por el método de 95% de LSD. La elaboración de gráficas de las dos superficies de respuesta se realizó en el Minitab 20, versión 20.3.0; también se usó el procesador de gráficas de Excel Profesional Plus 2016 para el análisis de las curvas de comportamiento del crecimiento del hongo.

En este sentido, la **figura 2** muestra la comparación del crecimiento de los micelios de *Fusarium sp.* *in vitro* durante la evaluación del anillo de inhibición cuando se pusieron en contacto con las soluciones de nanocobre, con cada una de las tres concentraciones.

En la **figura 2** se puede observar que a partir del segundo día existe un aumento en el diámetro del micelio fúngico en todos los tratamientos. El diámetro mayor correspondió a la muestra control (sin tratamiento con nanocobre, línea azul), con un diámetro máximo promedio de 9,25 cm. Mientras que, para las muestras sometidas a los tres tratamientos de nanocobre, se obtuvieron valores de diámetro promedio menores de 6,85; 5,94 y 5,34 cm de diámetro para

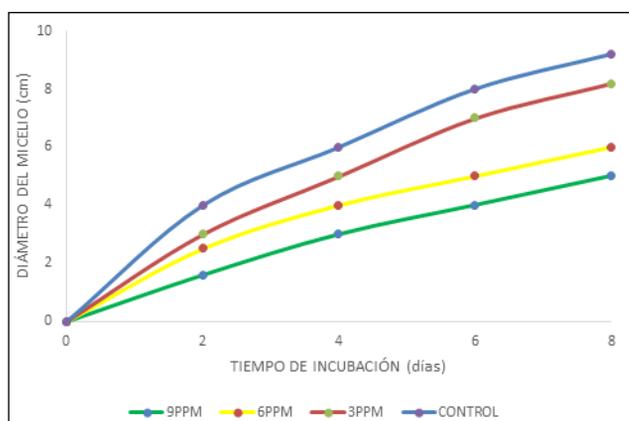


Figura 2. Diámetro del anillo de inhibición del *Fusarium sp.* durante ocho días de exposición a las soluciones de nanocobre a diferentes concentraciones.

las concentraciones de 3, 6 y 9 ppm, respectivamente, con un valor de $p = 0,0002$ para este conjunto de datos. La mayor inhibición sobre el diámetro del micelio fúngico se obtuvo a partir de la solución de 9 ppm (línea verde). Los valores de diámetro del anillo de inhibición permiten concluir que existen diferencias significativas entre cada tratamiento y un mayor crecimiento del hongo en la muestra de control. Los resultados también mostraron variaciones en los diámetros del anillo fúngico de 3,8; 3,1 y 2,8 cm en comparación al control para las concentraciones de 3, 6 y 9 ppm, respectivamente.

Observamos que a medida que aumentaba la concentración de la solución de nanopartículas de cobre, se redujo el crecimiento micelial de *Fusarium sp.* El tratamiento de 9 ppm redujo el crecimiento micelial de *Fusarium sp.* en un 50,7% en comparación con la muestra de control, el diámetro micelial disminuyó de 10,55 a 4,93 cm. Además, la tabla 3 muestra diferencias significativas entre los parámetros de concentración y los días, ya que el valor p para cada variable es $< 0,005$. Sin embargo, la figura 2 también evidencia que las concentraciones utilizadas no inhiben completamente el crecimiento del micelio de *Fusarium sp.*

Tabla 3. Análisis de varianza (ANOVA) para el crecimiento micelial realizada en Statgraphics V. 19.3.03.

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrada	Ratio F	Valor p
A: concentración	29,624	3	9,875	9,646	0,002
B: días	125,567	4	31,392	30,657	0,000
Residuos	12,289	12	1,024		
Total (corregido)	167,482	19			

Por su parte, la tabla 4 presenta el análisis estadístico de las diferencias entre las tres concentraciones de nanopartículas de cobre aplicadas. Según esta tabla, se pudo determinar que no hay diferencias significativas en el crecimiento micelial entre los tratamientos con 6 y 9 ppm de nanocobre.

Tabla 4. Pruebas de rango múltiple para la concentración de nanocobre.

Contraste	Significancia estadística	Diferencias	Límites
0-3	*	1,70	1
0-6	*	3,93	1
0-9	*	5,07	1
3-6	*	2,23	1
3-9	*	3,37	1
6-9		1,13	1

Contraste 0: muestra de control.
* indica diferencias significativas entre tratamientos.

Adicionalmente, las tablas 5 y 6 presentan las UFC/mL de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas desinfectadas, a los 0 y 5 días después de la inmersión en las soluciones de diferentes concentraciones de nanopartículas de cobre y con distintos tiempos de inmersión.

Tabla 5. UFC/mL de *Fusarium sp.* en las soluciones de inmersión de piñas durante el día 0 de desinfección.

Tiempo (min)	Concentración (ppm)		
	3	6	9
3	18,3 ± 1,4 a	15,5 ± 0,7 a	9,5 ± 0,7 a
6	14,1 ± 1,4 b	11,0 ± 1,4 b	6,0 ± 1,4 b
9	9,5 ± 0,7 c	6,5 ± 0,7 c	3,5 ± 0,7 b

Diferentes letras por columna indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

Tabla 6. UFC/mL de *Fusarium sp.* en las soluciones de inmersión de piñas después de 5 días de la desinfección.

Tiempo (min)	Concentración (ppm)		
	3	6	9
3	9,5 ± 0,7 a	7,0 ± 0,0 a	4,5 ± 0,7 a
6	7,0 ± 0,0 b	4,5 ± 0,7 b	2,5 ± 0,7 b
9	4,5 ± 0,7 c	2,0 ± 0,0 c	0,5 ± 0,7 b

Diferentes letras por columna indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

Por otro lado, la figura 3 muestra las variaciones en las UFC/mL de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas durante el día 0 de desinfección a diferentes concentraciones de nanopartículas de cobre y tiempos de inmersión, mientras que la figura 4 muestra las UFC/mL durante el día 5 después de la desinfección. Se pueden evidenciar las diferentes respuestas en el número de UFC obtenidas, hay un comportamiento inversamente proporcional entre las UFC/mL y la concentración de nanopartículas de cobre en conjunto con el

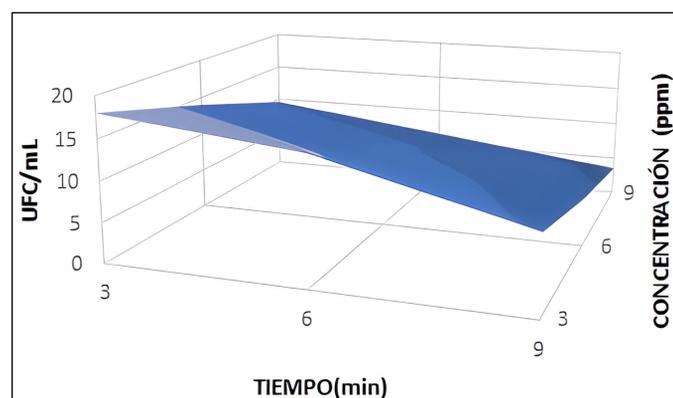


Figura 3. Efecto de nanocobre a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión en la reducción de UFC/mL de *Fusarium sp.* en la superficie de piñas durante el día 0 de desinfección

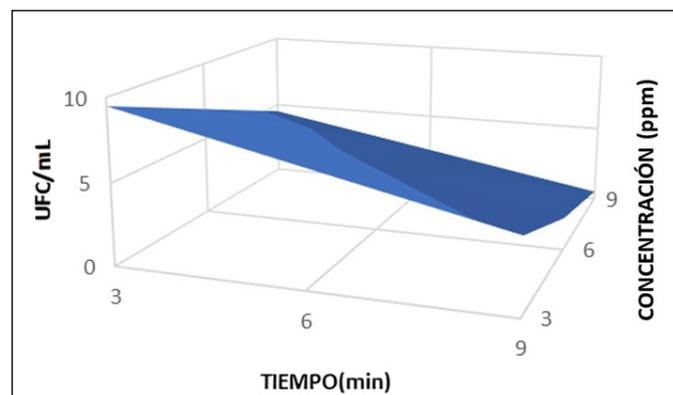


Figura 4. Efecto de nanocobre a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión en la reducción de UFC/mL de *Fusarium sp.* en la superficie de piñas después del día 5 de desinfección

tiempo de inmersión. El mejor tratamiento resultó ser la inmersión de las piñas en la solución de nanopartículas de cobre a una concentración de 9 ppm. En este tratamiento se obtuvieron $3,5 \times 10^3$ y $0,5 \times 10^3$ UFC/mL a día 0 y al día 5, respectivamente, ambos con $\sigma \pm 0,7$ UFC/mL. Estos valores son inferiores a los obtenidos en las piñas no sumergidas en las soluciones de iones de cobre, las UFC/mL para la piña no tratada tenían un valor de $27 \times 10^3 \pm 1,4$ en el día 0 y de $49,5 \times 10^3 \pm 0,7$ en el día 5. Es decir, se logró una reducción del 98,14% de las UFC/mL de *Fusarium sp.* sobre la superficie de la piña después de 5 días de inmersión. Estos resultados fueron consistentes con las pruebas obtenidas para el anillo de inhibición de crecimiento de *Fusarium sp.* a 9 ppm en placas Petri.

Por otro lado, las **tablas 7 y 8** muestran que los factores estudiados, concentración de nanocobre y tiempo de inmersión, tienen un efecto estadísticamente significativo en el crecimiento del *Fusarium sp.*, además de ser iguales entre sí, ya que tienen el mismo valor de $p = 0,00$, utilizando un nivel de confianza del 95%.

Tabla 7. Efecto significativo de la concentración de nanocobre en el crecimiento de *Fusarium sp.* ($p = 0,00$ 95% de confianza).

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrada	Ratio F	Valor p
A: concentración	184,111	2	92,056	74,545	0,000
B: días	172,111	2	86,056	69,683	0,000
Residuos	16,056	13	1,235		
Total (corregido)	372,278	17			

Tabla 8. Efecto significativo del tiempo de inmersión en el crecimiento de *Fusarium sp.* ($p = 0,00$; 95% de confianza).

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrada	Ratio F	Valor p
A: concentración	61,00	2	30,50	108,14	0,00
B: días	65,33	2	32,77	115,82	0,00
Residuos	3,67	13	0,28		
Total (corregido)	130,00	17			

Esto se evidencia en los promedios generales mostrados en las **figuras 5 y 6**, donde, al realizar el análisis para cada tiempo de inmersión, hay valores mayores a $p = 0,05$. El valor de p en el día 0 es de 0,0142; 0,0067 y 0,0211, y en el día 5 de 0,0075; 0,0101 y 0,0139, en los tiempos de inmersión de las frutas a 3, 6 y 9 min, respectivamente. Esto indica que la concentración de nanocobre tiene un efecto significativo entre cada tiempo de inmersión utilizado. Se obtuvo un promedio de $6,33 \pm 2,80 \times 10^3$ UFC/mL para 3 ppm y de $2,33 \pm 1,86 \times 10^3$ UFC/mL para el tratamiento 9 (9 ppm durante 9 min), en cada una de las mediciones de tiempo de desinfección realizadas (0 y 5 días).

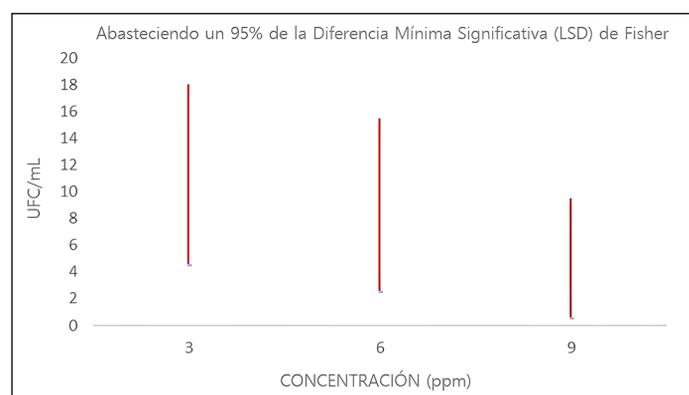


Figura 5. Medias de las colonias (UFC/mL) de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas durante el día 0.

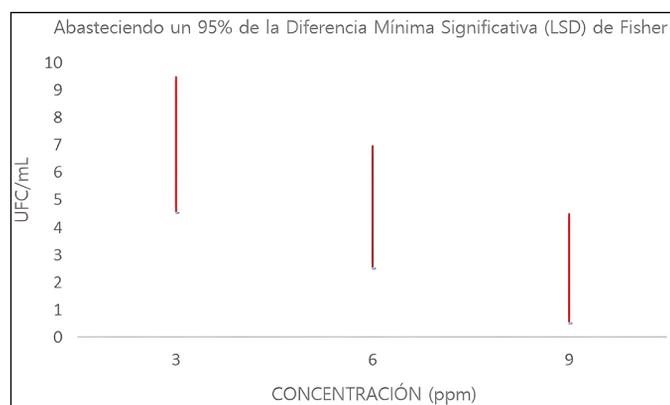


Figura 6. Medias de las colonias (UFC/mL) de *Fusarium sp.* en la superficie de las piñas durante el día 5.

Además, los resultados presentados en este trabajo tienen una validez significativa, como se demostró anteriormente. Sin embargo, al analizar las medias de cada grupo por factor de datos obtenidos, notamos que algunas de ellas tenían un comportamiento estadísticamente similar al analizar mediante el método LSD 95%, como se muestra en la **tabla 9**.

Tabla 9. Heterogeneidad entre las medias de tratamiento.

Concentración (ppm)	Tiempo (min)					
	3 (+)	6 (+)	9 (+)	3 (-)	6 (-)	9 (-)
3	a 1	a 1	a 2	a 1	a 2	a 3
6	b 1	b 1	b 2	b 1	b 2	b 3*
9	c 1	c 2	b 3	c 1	c 2*	b 2

+: indica mediciones de UFC obtenidas en la superficie de piñas durante el día 0.

–: indica mediciones tomadas el día 5 después de la desinfección.

* mejores tratamientos.

Diferentes letras en la misma columna y diferentes números en las filas indican diferencias significativas $p < 0,05$.

Por lo tanto, los mejores tratamientos en el día 0 fueron la desinfección por inmersión de las piñas durante 9 min en la solución de cobre de 6 y 9 ppm. Por su parte, en el día 5, se encontraron cuatro opciones estadísticamente viables: desinfectar las piñas durante 9 min con 6 o 9 ppm, o sumergir las piñas en 9 ppm durante 6 o 9 min.

Comparamos los resultados obtenidos en la investigación con los obtenidos por Hernández *et al.* [33], Betancour *et al.* [34] y Leyva *et al.* [35], quienes describen que las colonias aisladas de *Fusarium sp.* en medio PDA tienen un aspecto algodonoso blanco. Las coloraciones en los contornos del asentamiento pueden ser amarillas, grises, rojas, moradas o violetas (en nuestro caso eran gris blanquecino), dependiendo de la especie analizada. Además, dependiendo del nivel de purificación y del material fuente, las cepas pueden mutar de un tratamiento a otro. Microscópicamente, los mismos autores describen que los hongos del género en cuestión se caracterizan por formar macroconidias, microconidias y polifalides, que pueden o no estar agrupadas.

Morais da Silva *et al.* [36] mencionan que 14 días después de comenzar la incubación, usando *F. guttiforme*, obtienen valores entre 4 a 10 cm de diámetro para una cepa de control, mientras que Krzysko-Łupicka *et al.* [37] describen valores promedio de control de 8,5 cm para cepas de *F. graminearum*. Por su parte, Al-Rajhi *et al.* [38] mencionan que su control tenía un diámetro de 8,2 cm para *F. incarnatum*. Por lo tanto, los valores obtenidos en la investigación concuerdan con los encontrados por estos autores. Las ligeras diferencias pueden deberse al comportamiento independiente de cada especie en el género *Fusarium*.

Según Ahnert dos Santos *et al.* [39], al usar soluciones de CuSO_4 en concentraciones de 10 a 20 mmol/L en *F. solani*, estas podrían inhibir completamente el crecimiento de la colonia, teniendo un efecto

fungistático en el sexto día de análisis al usar una concentración de 5 mmol/L. Por su parte, Galal *et al.* [40] estudiaron el impacto de nanopartículas de cobre en cepas de *F. oxysporum*, obteniendo un resultado fungicida al usar concentraciones de 250 µg/mL. Esto muestra que a concentraciones más altas que las utilizadas en la investigación, se obtienen resultados letales en especies específicas de *Fusarium*.

Otros autores como Leon y Mattos [41] investigaron el efecto de la aplicación de proteína de cobre en el crecimiento de *Fusarium verticillioides*, donde lograron un porcentaje mínimo de inhibición del 87,67%, con mejores resultados cuando la solución de cobre se combinó con otros componentes biológicos. Asimismo, Pariona *et al.* [42] informaron que, utilizando concentraciones mínimas de 0,1 mg/mL, se logró una inhibición del 58%, mientras que con concentraciones de 1 mg/mL, la inhibición fue del 78%. Se obtuvieron resultados similares con un porcentaje de inhibición del 72,25% utilizando sulfato cúprico [43].

Además, Shivanad *et al.* [44] informaron propiedades antifúngicas de nanopartículas de cobre sintetizadas químicamente contra *Fusarium sp.* en condiciones *ex vivo*. Todas las nanopartículas inhibieron el crecimiento micelial de *C. capsicin* a 1000 ppm en comparación con el control. CuNP-M fue muy influyente en la inhibición del crecimiento micelial a 1000 ppm (99,78%), seguido de CuNP-E a 1000 ppm (93,75%). Los fungicidas estándar, oxocloruro de cobre al 50% WP @ 2500 ppm, reportaron 85,19%, seguido de carbendazim al 50% WP a 500 ppm con una inhibición del crecimiento del 72,69%.

La actividad antifúngica *in vitro* de las nanopartículas de óxido de cobre (CuO) también se ha evaluado. Su mayor porcentaje de inhibición en el crecimiento radial del micelio de *F. oxysporum* se midió en $91,92 \pm 0,16\%$ a 350 µg/mL, en contraste con el control no tratado ($p < 0,05$) [45].

Es importante mencionar que se debe establecer la cantidad de residuos de cobre (Cu) que queda en los alimentos, esto se debe a que, aunque el cobre es un mineral esencial, en concentraciones elevadas puede ser tóxico y perjudicial para la salud. En este sentido, Taylor *et al.* [46] reportaron que la concentración de Cu que puede ser ingerida por humanos es de 1,3–2,2 mg de Cu a través de suplementos. Por otro lado, Bost *et al.* [47] afirman que las dosis por debajo de 0,8 mg tienden a tener pérdidas de absorción, mientras que lo opuesto ocurre con cantidades de 2,4 mg.

Conclusiones

El crecimiento del anillo de inhibición de *Fusarium sp.* en agar PDA, preparado con soluciones de nanopartículas de cobre a una concentración de 9 ppm, se redujo hasta un 53% en comparación con el tratamiento de control.

Al comparar los valores de UFC/mL del hongo presentes en la superficie de la piña durante el día 0 de desinfección con los UFC/mL del día 5 después de la desinfección de las piñas en las soluciones de nanocobre a 3, 6 y 9 ppm, se logró un efecto antifúngico, debido a la reducción del número de colonias del hongo en la superficie de las piñas sometidas a todos los tratamientos.

En este sentido, los mejores tratamientos para la piña en lo referente al día 0 de desinfección fueron la inmersión de las piñas durante 9 min en la solución de nanocobre a 6 y 9 ppm de concentración. Por su parte, para el día 5 después de la desinfección por inmersión, se establecieron cuatro opciones estadísticamente viables: desinfectar las piñas durante 9 min en soluciones con concentraciones de 6 o 9 ppm, o sumergir las piñas en soluciones de 9 ppm de nanocobre durante 6 o 9 min.

Además, existieron diferencias significativas entre las UFC/mL del hongo en cada tratamiento de soluciones de nanocobre aplicado

y más aún cuando se comparó con el crecimiento del hongo en la muestra de control. Por lo tanto, se demostró que la aplicación de nanocobre es efectiva como inhibidor del crecimiento de *Fusarium sp.* en la superficie de piñas durante la poscosecha, pues disminuye significativamente su crecimiento y, por ende, las pérdidas de producción por degradación fúngica de esta fruta de exportación.

Referencias

- [1] N. A. Matrose, K. Obikeze, Z. A. Belay y O. J. Caleb, "Extractos de plantas y otros compuestos naturales como alternativas para el manejo poscosecha de hongos patógenos en frutas: una revisión", *Food Bioscience*, vol. 41, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100840>
- [2] B. G. Batista, M. A. de Chaves, P. Reginatto, O. J. Saraiva y A. M. Fuentefria, "Fusariosis humana: una infección emergente de difícil tratamiento", *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, vol. 53, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0013-2020>
- [3] M. Carmona y F. Sautua, "Epidemias de roya amarilla del trigo. nuevas razas en el mundo, monitoreo y decisión de uso de fungicidas", *Agron. Ambiente.*, vol. 38, nro. 1, 2018.
- [4] D. Lopez-Lima, A. I. Mtz-Enriquez, G. Carrión, S. Basurto-Cereceda y N. Pariona, "El papel bifuncional de las nanopartículas de cobre en tomate: Tratamiento eficaz contra el marchitamiento por *Fusarium* y promotor del crecimiento vegetal", *Sci. Hortic.*, vol. 277, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109810>
- [5] M. Khatami *et al.*, "Síntesis más ecológica de nanopartículas de óxido de cobre utilizando té y su eficacia antifúngica contra *Fusarium solani*", *Geomicrobiol. J.*, vol. 36, nro. 9, pp. 777–781, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/01490451.2019.1621963>
- [6] N. D. Pham, M. M. Duong, M. V. Le, H. A. Hoang y L. K. O. Pham, "Preparación y caracterización de nanopartículas de cobre coloidal antifúngicas y su actividad antifúngica contra *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora capsici*", *C. R. Chim.*, vol. 22, nro. 11–12, pp. 786–793, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2019.10.007>
- [7] S. C. Gaikwad *et al.*, "Cribado de diferentes especies de *Fusarium* para seleccionar especies potenciales para la síntesis de nanopartículas de plata", *J. Braz. Chem. Soc.*, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20130247>
- [8] P. Chen *et al.*, "Difusión y direccionalidad de nanopartículas cargadas en la membrana bicapa lipídica", *ACS Nano*, vol. 10, nro. 12, pp. 11541–11547, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b07563>
- [9] A. Saravanan *et al.*, "Una revisión sobre la biosíntesis de nanopartículas metálicas y sus aplicaciones ambientales", *Chemosphere*, vol. 264, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135713>
- [10] A. M. Abdelaziz, S. S. Salem, A. M. A. Khalil, D. A. El-Wakil, H. M. Fouda y A. H. Hashem, "Potencial de nanopartículas de óxido de zinc biosintetizadas para controlar la enfermedad del marchitamiento por *Fusarium* en berenjena (*Solanum melongena*) y promover el crecimiento de las plantas", *Biometals*, vol. 35, nro. 3, pp. 601–616, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10534-022-00391-8>
- [11] X. Chen y H. J. Schluesener, "Nanosilver: Un nanoproducto en aplicación médica", *Toxicol. Letón.*, vol. 176, nro. 1, pp. 1–12, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004>
- [12] A. Simon-Deckers, B. Gouget, M. Mayne-L'Hermite, N. Herlin-Boime, C. Reynaud y M. Carrière, "Investigación *in vitro* de la toxicidad y acumulación intracelular de nanopartículas de óxido y nanotubos de carbono en neumocitos humanos A549", *Toxicology*, vol. 253, nro. 1–3, pp. 137–146, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2008.09.007>
- [13] Z. M. Xiu, Q. B. Zhang, H. L. Puppala, V. L. Colvin y P. J. J. Alvarez, "Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles", *Nano Lett.*, vol. 12, nro. 8, pp. 4271–4275, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/nl301934w>
- [14] S. Chernousova y M. Epple, "Plata como agente antibacte-

- riano: iones, nanopartículas y metales”, *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, vol. 52, nro. 6, pp. 1636–1653, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201205923>
- [15] F. Sambale, S. Wagner, F. Stahl, R. R. Khaydarov, T. Scheper y D. Bahnemann, “Investigaciones del efecto tóxico de nanopartículas de plata en líneas celulares de mamíferos”, *J. Nanomater.*, vol. 5, nro. 2, 2015.
- [16] M. Rai *et al.*, “Fusarium como un nuevo hongo para la síntesis de nanopartículas: mecanismo y aplicaciones”, *J. Fungi*, vol. 7, nro. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7020139>
- [17] H. E. Chalandar, H. Reza Ghorbani, H. Attar y S. Abolhasan Alavi, “Efecto antifúngico de nanopartículas de cobre y óxido de cobre contra *Penicillium* en fruta de naranja”, *Biosci. Res. Asia*, vol. 14, nro. 1, pp. 279–284, 2017. DOI: <http://doi.org/10.13005/bbra/2445>
- [18] L. Carnielli-Queiroz, P. M. B. Fernandes, A. A. R. Fernandes y J. A. Ventura, “Un método rápido y confiable para la detección molecular de *Fusarium guttiforme*, el agente etiológico de la fusariosis de la piña”, *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol. 62, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180591>
- [19] S. Khayankarn, J. Uthaibutra, S. Setha y K. Whangchai, “Uso de agua oxidante electrolizada combinada con una onda ultrasónica para el control de enfermedades poscosecha de la piña cv. ‘Phu Lae’”, *Crop. Prot.*, vol. 54, pp. 43–47, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.07.004>
- [20] J. N. Mercado-Ruiz *et al.*, “Calidad comercial de piña MD2 (*Ananas comosus* L.) Tratada en postcosecha con ácido 2-hidroxibenzoico”, *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 20, nro. 2, 2019.
- [21] Instituto Ecuatoriano de Normalización, *Frutas frescas. Piña. Requisitos*, 2009.
- [22] J. Castro Chinchilla y G. Umaña Rojas, “Frecuencia de los hongos asociados al desarrollo de mohos poscosecha en el pedúnculo de la piña en dos zonas de Costa Rica”, *Agron. Costarricense.*, vol. 41, nro. 2, 2017. DOI: <http://doi.org/10.15517/rac.v41i2.31296>
- [23] J. Castro Chinchilla y G. Umaña Rojas, “Poblaciones e identificación de los hongos causantes de mohos poscosecha en el pedúnculo de la piña, en dos zonas de Costa Rica”, *Agron. Costarricense.*, vol. 39, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15517/rac.v39i3.21792>
- [24] L. E. López-Jácome, M. Hernández-Durán, C. A. Colín-Castro, S. Ortega-Peña, G. Cerón-González y R. Franco-Cendejas, “Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología”, *Investigación en Discapacidad*, vol. 3, nro. 1, 2014.
- [25] H. L. Barnett y B. B. Hunter, *Géneros ilustrados de hongos imperfectos*, 4.ª ed., St. Paul, American Phytopathological Society, 1998.
- [26] C. Bailón Aijón y L. Nieto Melo, “Evaluación de la germinación in vitro de *epidendrum oxysepalum* Hagsater & E. Santiago en presencia de hongos micorrízicos aislados de orquídeas de ecosistemas altoandinos”, *Revista Ciencia: Desarrollo e Innovación*, vol. 2, nro. 2, pp. 11–19, 2016.
- [27] A. A. Asanova, V. I. Polonskiy, N. S. Manukovsky y S. V. Khizhnyak, “Actividad fungistática de nanopartículas diseñadas”, *Nanotechnol. Russ.*, vol. 13, nro. 5–6, pp. 277–280, 2018. DOI: <http://doi.org/10.1134/S1995078018030023>
- [28] C. Betancourth García, C. Salazar González, L. E. Lagos Mora, V. Díaz Rodríguez y S. Mora Chaves, “Caracterización de *Fusarium* spp. asociado con la pudrición basal de la cebolla de rama”, *Rev. Udca Actual. Divulgar. Científico.*, vol. 23, nro. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n1.2020.1471>
- [29] A.D. Hernández Amasifuen, A. J. Pineada Lazaro y H. W. Noriega-Cordoba, “Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenidos de zonas productoras de ‘ají pimentón’ *Capsicum annum* L. (Solanaceae) en el distrito de Barranca, Perú”, *Arnaldoa*, vol. 26, nro. 2, págs. 689–697, 2019. DOI: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.262.26211>
- [30] 3M Microbiology Products, *PetriFilm™ Placas para Recuento de Coliformes*, Boulevard de l’Oise.
- [31] S. G. Leyva-Mir, H. E. Vega-Portillo, H. E. Villaseñor-Mir, B. Tlapal-Bolaños, M. Vargas-Hernández, M. Camacho-Tapia, J. M. Tovar-Pedraza, “Caracterización de especies de *Fusarium* causantes de pudrición de raíz del trigo en el Bajío, México”, *Chil. j. agric. anim. sci.*, vol. 33, nro. 2, pp. 142–151, 2017. DOI: <http://doi.org/10.4067/S0719-38902017005000404>
- [32] K. Retana, J. A. Ramírez Coché, O. Castro y M. Blanco Meneses, “Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP. Apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica”, *Agronomía Costarricense*, vol. 42, nro. 1, pp. 15–17, 2017. DOI: <http://doi.org/10.15517/rac.v42i1.32199>
- [33] E. Morais da Silva *et al.*, “El aceite esencial de eucalipto (*Corymbia citriodora*) y el biofertilizante presentan un efecto fungistático sobre *Fusarium guttiforme*”, *American Academic Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, vol. 88, nro. 1, pp. 133–144, 2022.
- [34] T. Krzyśko-Łupicka, W. Walkowiak y M. Białoń, “Comparación de la actividad fungistática de aceites esenciales seleccionados en relación con aislados de *Fusarium graminearum*”, *Molecules*, vol. 24, nro. 2, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24020311>
- [35] A. M. H. Al-Rajhi, R. Yahya, M. M. Alawlaqi, M. A. Fareid, B. H. Amin y T. M. Abdelghani, “Nanopartículas de óxido de cobre como fungistato para inhibir la producción de micotoxinas y enzimas hidrolíticas por *Fusarium incarnatum* aislado de biomasa de ajo”, *Bioresources*, vol. 17, nro. 2, pp. 3042–3056, 2022. DOI: <https://doi.org/10.15376/biores.17.2.3042-3056>
- [36] R. A. A. Dos Santos *et al.*, “Actividad antifúngica de compuestos de cobre, zinc y potasio en el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*”, *Microbiol. Res. J. Int.*, vol. 29, nro. 6, págs. 1–11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.9734/mrji/2019/v29i630179>
- [37] G. F. Galal, B. T. Abd-Elhalim, K. A. Abou-Taleb, A. A. Haroun y R. F. Gamal, “Toxicity assessment of green synthesized Cu nanoparticles by cell-free extract of *Pseudomonas silesiensis* as antitumor cancer and antimicrobial”, *Ann. Agric. Sci.*, vol. 66, nro. 1, pp. 8–15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2021.01.006>
- [38] B. L. Ttacca y L. L. M. Calderon, “Control de hongos fitopatógenos asociados a semillas de palto *Persea americana* Mill. (Lauraceae) In Vitro”, *Ciencia Latina*, vol. 5, nro. 3, págs. 2690–2701, 2021. DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i3.483
- [39] N. Pariona *et al.*, “Síntesis de nanopartículas de cobre para el control de hongos fitopatógenos”, *Revista ECI Perú*, vol. 15, nro. 2, 2018. DOI: <https://doi.org/10.33017/RevECIPeru2018.0017/>
- [40] D. Alburqueque Andrade y R. Gusqui Mata, “Eficacia de fungicidas químicos para el control in vitro de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas”, *Arnaldoa*, vol. 25, nro. 2, 2018. DOI: <https://doi.org/10.22497/877>
- [41] K. S. Iliger *et al.*, “Nanopartículas de cobre: síntesis ecológica y manejo de la enfermedad de podredumbre de la fruta del chile causada por *Colletotrichum capsici*”, *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 28, nro. 2, pp. 1477–1486, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.003>
- [42] H. Ashraf *et al.*, “Mecanismo de inhibición de nanopartículas de óxido de cobre sintetizadas en verde de *Cassia fistula* hacia *Fusarium oxysporum* al potenciar el crecimiento y la respuesta de defensa en tomates”, *Environ. Sci. Nano*, vol. 8, nro. 6, pp. 1729–1748, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/D0EN01281E>
- [43] A. A. Taylor *et al.*, “Critical Review of Exposure and Effects: Implications for Setting Regulatory Health Criteria for Ingested Copper”, *Environ. Manage.*, vol. 65, nro. 1, pp. 131–159, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00267-019-01234-y>
- [44] M. Bost, S. Houdart, M. Oberli, E. Kalonji, J. F. Huneau y I. Margaritis, “Dietary copper and human health: Current evidence and

unresolved issues”, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, vol. 35, pp. 107–115, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.02.006>

[45] M. Blanco Meneses, O. Castro Zúñiga y G. Umaña Rojas, “Estudio preliminar de especies de *Fusarium* presentes en piña (*Ananas comosus*) en Costa Rica”, *Agron. Costarricense.*, vol. 46, nro. 1, 2022. DOI: <http://doi.org/10.15517/rac.v46i1.49867>

[46] R. Vilaplana, K. Pérez-Revelo y S. Valencia-Chamorro, “Aceites esenciales como tratamiento alternativo poscosecha para el control de la fusariosis, causada por *Fusarium verticillioides*, en piñas frescas (*Ananas comosus*)”, *Sci. Hortic.*, vol. 238, nro. 19, pp. 255–263, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.052>

Citación del artículo:

H. Romero Bonilla, E. Jaramillo Aguilar, J. Medina, M. J. Farias y H. Ayala Armijos, "Nanopartículas de iones de cobre para el control de *Fusarium sp.* en piña para exportación", *Rev. Colomb. Quim.*, vol. 52, nro. 3, pp. 41-50, 2024. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v52n3.112172>