

## EFICACIA DE PERÓXIDOS EN LA DESINFECCIÓN DE SUELOS APTOS PARA EL CULTIVO DE FRESA EN EL MEDITERRÁNEO

### EFFECTIVENESS OF PEROXIDES IN SOIL DISINFECTION IN RELATION WITH STRAWBERRY CULTIVATION IN THE MEDITERRANEAN

Yazmín Cuervo-Usán<sup>1\*</sup>, Pablo Tornos-Mauri<sup>2</sup>, Juan C. Hernández-Domínguez<sup>2</sup>, Diego Orihuela-Calvo<sup>2</sup>, Martha E. Domínguez-Hernández<sup>1</sup> y Ernesto Moreno-Martínez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Agrícolas, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. Km. 2.5 Car. Cuautitlán-Teoloyucan. 54714, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México. Tel. 01-55-56-23-18-41. <sup>2</sup>Escuela Politécnica Superior de La Rábida, Universidad de Huelva. Apdo. 21819. Palos de La Frontera, Huelva, España.

\*Autor para correspondencia (yazmincuervo@hotmail.com)

#### RESUMEN

Ante la inminente necesidad de encontrar alternativas sustentables para la desinfección de los suelos cultivados con fresa (*Fragaria vesca*) en el Mediterráneo, se probaron opciones amigables con el ambiente. El objetivo fue evaluar la eficacia del peróxido de hidrógeno (OXI) y del ácido peracético (APA) como desinfectantes del suelo, mediante la determinación de su efecto biocida sobre la micoflora y sobre la frecuencia de los hongos. Los muestreos de suelo se llevaron a cabo en la Finca Las Malvinas, Palos de la Frontera, Huelva, España. Se compararon cinco dosis de cada uno de los dos productos (en mL kg<sup>-1</sup>): OXI D0: 0; D1: 0.128; D2: 1.28; D3: 12.8; D4: 128; y APA D0: 0 ; D1: 0.853; D2: 8.53; D3: 85.3; D4: 853. En cada tratamiento se determinó su efecto sobre las unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en un kilogramo de suelo. Con las dosis OXI D4 y APA D4 se obtuvo un 100 % de desinfección. Las dosis OXI D1, OXI D2, APA D1 y APA D2 no mostraron eficiencia como desinfectantes, pero lograron bajar a 0 % la frecuencia de *Phytophthora* sp. y *Botrytis* sp., en relación a los demás géneros de hongos identificados: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Rhizopus*.

**Palabras clave:** Peróxido de hidrógeno, ácido peracético, desinfección de suelos, micoflora.

#### SUMMARY

Environment friendly disinfection options were tested on soils used in strawberry (*Fragaria vesca*) cultivation in the Mediterranean, due to the imminent need of finding sustainable alternatives. The efficacy of hydrogen peroxide (OXI) and peracetic acid (APA) as soil disinfectants was assessed by determining their biocide effect on mycoflora and fungi frequency. Soil sampling was carried out in Finca Las Malvinas, Palos de la Frontera, Huelva, Spain. Five doses of each product were compared (in mL kg<sup>-1</sup>): OXI D0: 0; D1: 0.128; D2: 1.28; D3: 12.8; D4: 128; y APA D0: 0; D1: 0.853; D2: 8.53; D3: 85.3; D4: 853, for the determination of their effect on colony forming units (CFU) in 1 kg of soil. With the doses OXI D4 and APA D4 a 100 % of disinfection was obtained. The doses OXI D1, OXI D2, APA D1 and APA D2 did not show efficacy as disinfectants. However, they were able to reduce the frequency of *Phytophthora* sp. and *Botrytis* sp. to 0 %, compared to other identified fungi genera: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* and *Rhizopus*.

**Index words:** Hydrogen peroxide, peracetic acid, soil, disinfection, mycoflora.

#### INTRODUCCIÓN

La agricultura es una de las actividades de mayor impacto ecológico, en lo que se refiere a la emisión de gases y a la contaminación del suelo y del agua en particular (Lampkin, 2001; Gómez, 2002). Una de las principales fuentes de contaminación agrícola en suelos y agua son los plaguicidas. En varias especies hortícolas, como la fresa (*Fragaria vesca*) para obtener cultivos sanos, la desinfección del suelo es indispensable, lo cual se ha hecho mediante aplicaciones de productos de alta peligrosidad como el bromuro de metilo, el cual está en desuso debido a que afecta la capa de ozono (Karavina y Mandumbu, 2012).

Para sustituirlo, es necesario encontrar alternativas que sean eficientes y amigables con el medio (Mehmet, 2003). Esta búsqueda inició en 1992, cuando el bromuro de metilo fue clasificado como Clase I de sustancias controladas con un potencial de agotamiento del ozono en el Protocolo de Montreal (Sande *et al.*, 2011). Entre las alternativas están algunas prácticas culturales como la solarización y la aplicación de productos como el Dazomet que, de acuerdo con Mitideri *et al.* (2009), D'Emilio *et al.* (2012) y Benavides-Mendoza *et al.* (2004), produjo buenos resultados en la desinfección de suelos freseros.

El uso de productos orgánicos como los peróxidos se vislumbra también como una posibilidad para minimizar el impacto ambiental. El peróxido de hidrógeno es un agente oxidante con alta reactividad que se utiliza ampliamente como un desinfectante (Chapman, 1998). Se usa en la medicina, en la industria y en la restauración, entre otras; sin embargo, su aplicación en procesos agrícolas ha sido escasa debido a la poca información al respecto.

Las investigaciones sobre su uso datan de fines del siglo XX. Baldry (1982) comparó las propiedades antimicrobiales de algunas soluciones de peróxido de hidrógeno y ácido

peracético, y encontró que son excelentes para eliminar esporas fúngicas, y también muy buenos bacteristáticos, especialmente en condiciones de acidez.

Se ha comprobado que el peróxido de hidrógeno tiene bajo impacto ecológico en sistemas hidropónicos (Vines *et al.*, 2003), y que puede sustituir al cloro como alternativa de desinfección, para mejorar la calidad microbiológica de los arándanos (*Vaccinium* sp.) (Crowe *et al.*, 2007).

El ácido peracético es un desinfectante efectivo con un amplio espectro de actividad antimicrobiana. Debido a su efectividad como bactericida, viricida, fungicida y esporocida en diversas industrias, recientemente se le ha dado más atención a su aplicación en afluentes de agua, especialmente porque es de fácil aplicación y bajo costo, y actúa aún en presencia de materia orgánica, residuos tóxicos o mutagénicos; también tiene baja dependencia del pH, un breve periodo de aplicación y efectividad para afluentes primarios o secundarios (Kitis, 2004).

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la eficacia del peróxido de hidrógeno y del ácido peracético como desinfectantes del suelo comparando distintas dosis, para evaluar su efecto biocida sobre la microflora, así como su efecto sobre la frecuencia de los hongos, en muestras de suelos destinados al cultivo de la fresa, provenientes de Palos de la Frontera, Huelva, España.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se llevó a cabo en los laboratorios de la Escuela Politécnica Superior de La Rábida, Departamento de Ciencias Agroforestales, ubicada en Palos de la Frontera, Huelva, España, durante el ciclo agrícola de octubre de 2011 a mayo de 2012. Las muestras de suelo procedían de la Finca Las Malvinas, de Palos de la Frontera, Huelva, destinada a la siembra de fresa. Se analizaron las características más relevantes del suelo.

Aislamiento de microorganismos. Se hizo una evaluación previa de las colonias de hongos presentes en el suelo, que corresponde a la microflora original. El medio de cultivo utilizado para la dilución fue Papa Dextrosa Agar (PDA). La técnica de aislamiento fue la dilución en serie de  $1 \times 10^{-1}$

a  $1 \times 10^{-3}$ .

Las poblaciones de hongos del suelo se cuantificaron antes y después de los tratamientos. Los géneros se identificaron mediante claves taxonómicas (Domsch *et al.*, 1980). El número total de colonias se contó en cada caja de Petri. La frecuencia se calculó como porcentaje con la fórmula de De-Cal *et al.* (2005):

Desinfección del suelo. El experimento se realizó como un factorial  $2 \times 5$  con arreglo completamente al azar con 10 tratamientos distribuidos en un diseño completamente al azar con arreglo factorial  $2 \times 5$ ; en el que los tratamientos fueron: peróxido de hidrógeno (OXI) y ácido peracético (APA), ambos con cinco niveles (D0, D1, D2, D3 y D4) (Cuadro 1); cada uno de los 10 tratamientos se repitió por triplicado. Se utilizaron macetas de polietileno (PE) negro de 1 L de capacidad, las cuales se rellenaron con 1 kg de suelo y a cada una se le agregó el tratamiento correspondiente, y luego se selló con "parafilm". Las macetas tratadas se colocaron en una estufa para el control de la temperatura (28 °C) y la humedad durante una semana.

La variable de respuesta fue la unidad formadora de colonias (UFC). Los valores obtenidos se analizaron en Minitab 16®, con análisis de varianza y la prueba de medias se realizaron con Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características más relevantes del suelo son: Arenas con un drenaje elevado, nula pedregosidad, cuyo material original es arenisca silicea (Pleistoceno) y su clasificación es Entic Xerumbrepts (De la Rosa, 1984). El análisis del suelo se muestra en el Cuadro 2.

En lo que se refiere a la eficacia del peróxido de hidrógeno (OXI) y del ácido peracético (APA) como desinfectantes, el análisis de varianza muestra que existen diferencias significativas entre las dosis ( $P = 0.000$ ) y en la interacción producto  $\times$  dosis ( $P = 0.021$ ). Al realizar la prueba de medias para los tratamientos se determinó que los mejores resultados se obtuvieron con OXI D4 y APA D4, APA D3, OXI D3 y APA D2, que superaron a los demás tratamientos en abatir las UFC, y sin diferencias entre ellos. Las dosis D0,

**Cuadro 1. Productos y dosis empleados para la desinfección del suelo Entic Xerumbrepts de la finca de Las Malvinas, Palos de la Frontera, Huelva, España.**

Producto	Dosis (mL kg <sup>-1</sup> )				
	D0	D1	D2	D3	D4
Peróxido de hidrógeno (OXI)	0	0.128	1.28	12.8	128
Ácido peracético (APA)	0	0.853	8.53	85.3	853

D1 y D2 de ambos productos muestran una media de UFC que varía entre 101.3 y 226.3. La dosis D3 de OXI no es tan efectiva ya que presenta una media de 56.7; sin embargo, comparada con las dosis D0, D1 y D2 hay una reducción de aproximadamente 75 %, y con el APA en la dosis 3 las UFC se reducen en 99 % (Cuadro 3).

Los géneros de hongos identificados fueron: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phytophthora*, *Trichoderma*, *Rhizopus* y *Botrytis* (Figura 1). Su frecuencia después de las aplicaciones se muestra en la Figura 2, en donde se puede ver que *Phytophthora* y *Botrytis*, géneros presentes en la problemática fitosanitaria de la región, desaparecen a partir de la dosis más baja (OXI D2 y APA D2).

A pesar de que no se logró una desinfección, es importante resaltar que algunos hongos que causan pérdidas en el cultivo de la fresa no se presentaron después de los

tratamientos, como *Phytophthora* y *Botrytis*. El incremento o permanencia de *Penicillium* y de *Trichoderma* pueden deberse a su competitividad potencial de descomposición química y capacidad de invadir nuevos nichos (De-Cal y Melgarejo, 1997; Trabue *et al.*, 2007). Esto es de significancia ecológica, ya que *Trichoderma* es un género con potencialidad para utilizarse en programas de control integrado como agente de biocontrol para hongos patógenos del suelo. Por su parte, la permanencia de *Fusarium* se puede deber a que la efectividad de la desinfección depende del tipo de microorganismo, pues en algunas investigaciones se ha encontrado que los conidios de *Fusarium solani* son más resistentes que *Escherichia coli* (García-Fernández *et al.*, 2012).

La desinfección total lograda con la dosis más alta concuerda con lo señalado por Sichel *et al.* (2009), pero el riesgo es que tal dosis puede ocasionar toxicidad, además del costo elevado que representa. Los datos experimentales de algunas

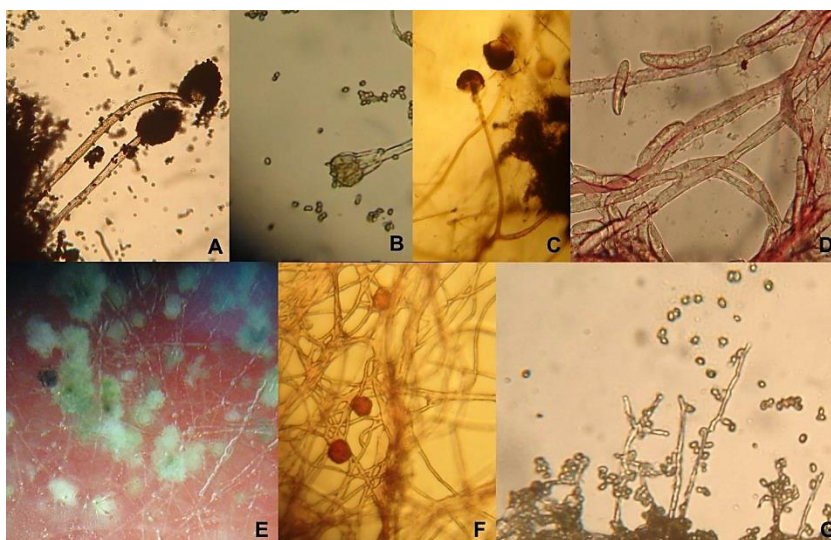
**Cuadro 2. Análisis del suelo Entic Xerumbrepts en extracto saturado.**

Elemento	pH	CE	Nitratos (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Fosfatos (PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> )	Potasio (K <sup>+</sup> )	Calcio (Ca <sup>2+</sup> )	Magnesio (Mg <sup>2+</sup> )	Materia orgánica (MO)
Valor y Unidades	8.3	119.7 µS/cm	200 mg/L	15 mg/L	125 mg/L	0 mg/L	25 mg/L	0.77 %

**Cuadro 3. Unidades formadoras de colonias (UFC) en un suelo tratado diferentes dosis de peróxido de hidrógeno (OXI) y ácido peracético (APA).**

Producto	OXI					APA				
	D0	D1	D2	D3	D4	D0	D1	D2	D3	D4
UFC	226.3 a	157 abc	187.7 ab	56.7 cd	0.0 d	218.3 a	226.0 a	101.3 bcd	2.7 d	0.0 d

Las medias que comparten la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).



**Figura 1. Géneros de hongos identificados en un suelo tratado con los biocidas peróxido de hidrógeno (OXI) y ácido peracético (APA). A) *Aspergillus*; B) *Penicillium*; C) *Rhizopus*; D) *Fusarium*; E) *Botrytis*; F) *Phytophthora*; G) *Trichoderma*.**

concentraciones de OXI y APA se ajustaron con una regresión lineal para determinar dosis intermedias que puedan ser utilizadas en experimentos posteriores. En el caso de APA se consideraron las concentraciones 8.53 y 85.3, pero sería conveniente probar las dosis 66.1 y 75.7 con el fin de determinar la dosis mínima del producto (Figura 3). Dosis superiores o inferiores no generarían resultados deseables, ya sea por el costo que implican o por la poca efectividad para la disminución del número de UFC. En lo que se refiere a OXI, las concentraciones consideradas son 1.28, 12.8 y 128, y los resultados obtenidos indican que sería conveniente probar dosis superiores a 9.92 e inferiores a 70.4 (Figura 4).

### CONCLUSIONES

La desinfección de suelos con productos como el peróxido de hidrógeno y el ácido peracético permitirían disminuir la contaminación ambiental de suelos. Además, estos productos representan una alternativa viable al uso de fumigantes como el bromuro de metilo. La efectividad de la aplicación del peróxido de hidrógeno sobre las UFC se obtiene con dosis entre 1.28 y 12.8; sin embargo, las UFC de géneros como *Phytophthora* y *Botrytis* se eliminan casi totalmente con la aplicación de la dosis de OXI D1, esto indica que el producto es efectivo en la desinfección de suelos freseros. Estadísticamente no existe diferencia con la apli-

cación de APA, que a dosis bajas es mejor el OXI. Con la modificación del número de UFC derivada de la aplicación de peróxidos se podría realizar un manejo de las poblaciones de patógenos de modo eficaz, ya que se observa la permanencia de hongos del género *Trichoderma* que se utiliza para control biológico.

### AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) por la beca otorgada para la estancia sabática en la Universidad de Huelva, España, a través del Programa de Apoyos para la Superación del Personal Académico de la UNAM (PASPA).

### BIBLIOGRAFÍA

- Baldry M. G. C. (1982) The bactericidal, fungicidal and sporocidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *Journal of Applied Bacteriology* 54:417-423.
- Benavides-Mendoza A., H. Ramírez, V. Robledo-Torres y J. Hernández-Dávila (2004) El efecto de tres fumigantes de suelo y dos cepas de bacterias sobre la productividad de fresa (*Fragaria x ananassa*). *International Journal of Experimental Botany Fyton* 2004:91-102.
- Chapman J. S. (1998) Characterizing bacterial resistance to preservatives and disinfectants. *International Biodeterioration and Biodegradation Journal* 41:241-245.
- Crowe K., A. A. Bushway, R. J. Bushway, K. Davis-Dentici and R. A. Hazen (2007) A comparison of single oxidants versus advanced oxidation processes as chlorine-alternatives for wild blueberry processing (*Vaccinium angustifolium*). *International Journal of*

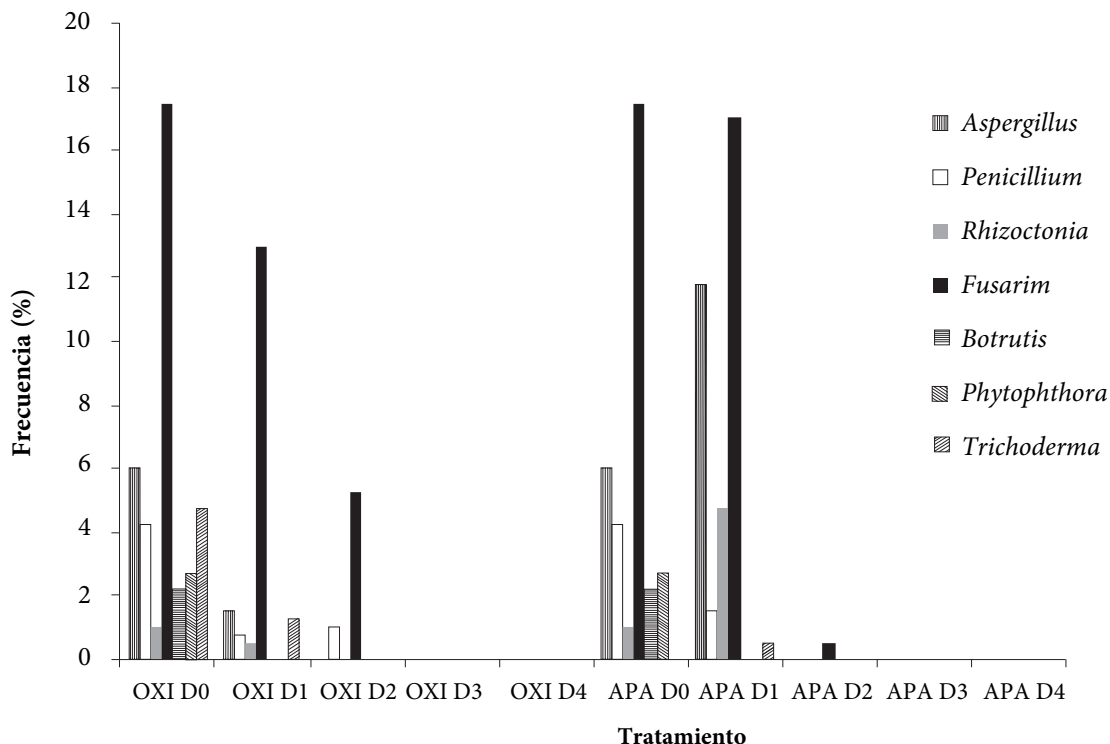


Figura 2. Frecuencia de los géneros de hongos encontrados en un suelo tratado con diferentes dosis de los biocidas peróxido de hidrógeno (OXI) y ácido peracético (APA).

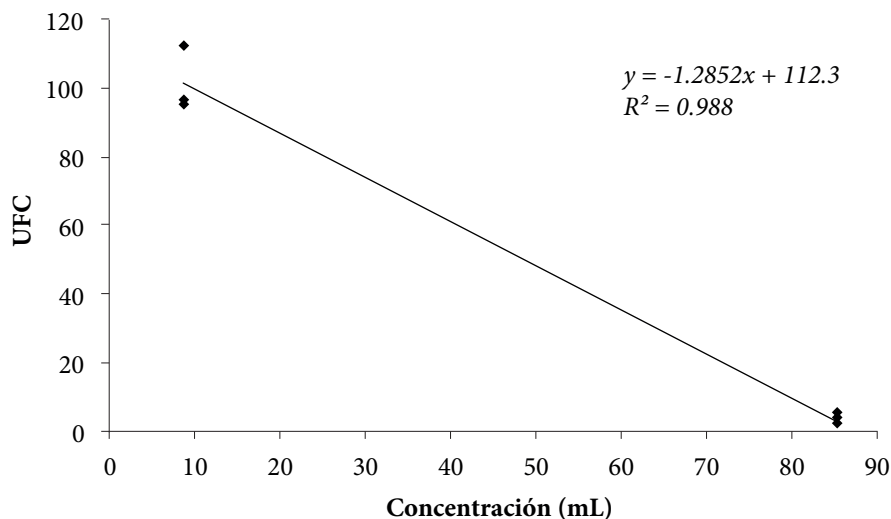


Figura 3. Ajuste lineal para UFC a partir de concentraciones experimentales de ácido peracético (APA).

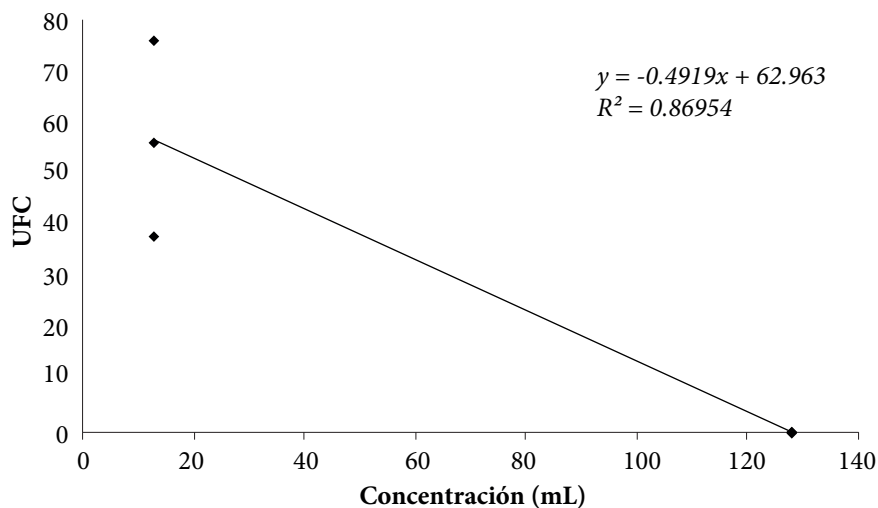


Figura 4. Ajuste lineal para unidades formadoras de colonias (UFC) experimentales de peróxido de hidrógeno (OXI).

*Food Microbiology* 116:25-31.

De Cal A., A. Martínez-Trecheño, T. Salto, J. M. López-Aranda and P. Megarejo (2005) Effect of chemical fumigation on soli fungal communities in Spanish strawberry nurseries. *Applied Soil Ecology* 20:47-56.

De Cal A. and P. Melgarejo (1997) Interaction of pesticides and mycoflora of peach twigs. *Mycological Research* 96:1105-1113.

D’Emilio A., R. Mazzarella S. M. C. Porto and G. Cascone (2012) Neural networks for predicting greenhouse thermal regimes during soil solarization. *Transactions of the ASABE* 55:1093-1103.

De la Rosa D. (1984) Catálogo de Suelos de Andalucía. Agencia del Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Sevilla, España.

Domsch K. H., W. Gams and T. H. Anderson (1980) Compendium of Soil Fungi. Academic Press. London, New York, 859 p.

García-Fernández I., I. Polo-López and P. Fernández-Ibáñez (2012) Bacteria and fungi inactivation using Fe+/sunlight, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/sunlight and near neutral photo-Fenton: A comparative study. *Applied Catalysis B: Environmental* 121-122:20-29.

Gómez O. D. (2002) Evaluación de Impacto Ambiental. 2ª. ed. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, ES. 755 p.

Karavina C. and R. Mandumbu R. (2012) Phytoparasitic nematode management post-methyl bromide: where to for Zimbabwe? *International Journal of Agricultural Technology* 8:1141-1160.

Lampkin N. (2001) Agricultura Ecológica. Ed. Mundi Prensa. Madrid, Es. 748 p.

Kitis M. (2004) Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environment International* 30:47-55.

Mehmet K. (2003) Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environmental International* 30:47-55.

Mitideri M., V. Brambilla, V. Saliva, E. Piris, R. Celié, C. Pereyra, K. Del Pardo, E. Chaves y J. González (2009) Efecto de distintas secuencias de tratamientos de biofumigación sobre parámetros fisicoquímicos y biológicos del suelo, el rendimiento y la salinidad e cultivos de tomate y lechuga bajo cubierta. *Horticultura Argentina* 28:5-17.

Sande D., J. Mullen, M. Wetzein and J. Houston (2011) Environmental

- impacts from pesticide use: a case study of soil fumigation in Florida tomato production. *Environmental Research and Public Health* 8:4649-4661.
- Sichel C., P. Fernández-Ibáñez, M. de Cara and J. Tello (2009) Lethal synergy of solar UV-radiation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on *Fusarium solani* spores in distilled and natural water. *Water Research* 43:1841-1850.
- Trabue S. L., A. V. Ogram and L. T. Ou (2007) Dynamics of carbofuran-degrabiol during microbial communities in soil during three successive annual applications of carbofuran. *Soil Biology and Biochemistry* 33:75-81.
- Vines J. R. L., P. D. Jenkins, C. H. Foyer, M. S. French and I. M. Scott (2003) Physiological effects of peracetic acid on hydroponic tomato plants. *Annals of Applied Biology* 143:153-159.