

EFFECTO DEL OZONO SOBRE LA POBLACIÓN MICROBIANA DEL SUELO Y EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE FRESA

Effect of Ozone on Soil Microbial Populations and Growth of Strawberry Plants

Carlos Manuel Bucio Villalobos^{1‡}, Fidel René Díaz Serrano¹,
Oscar Alejandro Martínez Jaime¹ y Juan José Torres Morales²

¹ Universidad de Guanajuato-DICIVA. Km 9 Carretera Irapuato-Silao, Colonia El Copal. 36821 Irapuato, Guanajuato, México.

[‡] Autor responsable (buciovillalobos@yahoo.com.mx)

² Universidad de Guanajuato-DCSI, Prolongación Río Lerma s/n, Colonia Suiza. 38069 Celaya, Guanajuato, México.

RESUMEN

Una de las formas de control de microorganismos fitopatógenos del suelo es el uso de fumigantes, los cuales, se ha demostrado, tienen efecto contaminante del ambiente. Con la finalidad de ofrecer una alternativa amigable con el entorno se propuso la presente investigación con el objetivo de evaluar la eficacia del ozono disuelto en el agua aplicada como riego, para reducir las poblaciones de microorganismos habitantes del suelo en una plantación de fresa, además de evaluar su posible efecto positivo indirecto sobre el crecimiento de las plantas. Con la ayuda de un generador se aplicó ozono disuelto en el agua a través del sistema de riego por goteo establecido en una parcela plantada con fresa de la variedad Camino Real. Se tomaron muestras de suelo en 10 sitios aleatorios de las parcelas experimentales un día antes de la aplicación y un día después, a estas se les cuantificó poblaciones de hongos, bacterias y nematodos. Los resultados de la aplicación del ozono disuelto en el agua de riego mostró una reducción de las poblaciones totales de hongos, bacterias y nematodos habitantes del suelo de 22.8×10^4 a 8.5×10^4 , de 4.3×10^6 a 1.2×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo y de 20.3 a 10.4 nematodos filiformes por 100 mL de suelo, respectivamente, lo que demostró una eficacia del ozono como fumigante sobre los tres tipos de microorganismos evaluados, similar a la del metam sodio (testigo). La aplicación única de ozono al inicio de la plantación no tuvo efecto sobre el crecimiento de las plantas de fresa.

Palabras clave: *fumigantes; fitopatógenos del suelo; metam sodio.*

SUMMARY

Soil borne plant pathogens can be controlled using fumigants, which also are potential environmental pollutants. In order to provide an environment-friendly alternative, this research aimed to evaluate the effectiveness of ozone dissolved in water and applied through irrigation in reducing populations of soil-borne microorganisms and its possible indirect positive effect on plant growth. Ozone dissolved in water with a generator was applied through a drip irrigation system established in a plot planted with strawberry variety Camino Real. Soil was sampled at 10 sites in the experimental plots, before and after application. Samples were processed in a laboratory and populations of bacteria, fungi and nematodes were quantified. Applying ozone in irrigation water reduced populations of fungi, bacteria and nematodes from 22.8×10^4 to 8.5×10^4 , from 4.3×10^6 to 1.2×10^6 colony formation units (CFU) per gram of soil, and from 20.3 to 10.4 filiform nematodes per 100 mL of soil, respectively. The efficacy of ozone as a fumigant against the three types of microorganisms evaluated was similar to that of metam sodium (control). The single application of ozone at the beginning of planting had no effect on strawberry plants growth.

Index words: *fumigants; soil pathogens; metam sodium.*

INTRODUCCIÓN

El cultivo de fresa (*Fragaria × ananassa* Duch.) ha sido importante para México desde mediados del siglo XX, cuando se inició la demanda del producto en el

Como citar este artículo:

Bucio Villalobos, C. M., F. R. Díaz Serrano, O. A. Martínez Jaime y J. J. Torres Morales. 2016. Efecto del ozono sobre la población microbiana del suelo y el crecimiento de plantas de fresa. *Terra Latinoamericana* 34: 229-237.

Recibido: agosto de 2015. Aceptado: marzo de 2016.

Publicado en *Terra Latinoamericana* 34: 229-237.

mercado estadounidense. La superficie sembrada en nuestro país durante el año 2013 fue de 6721 hectáreas, con una producción de 329 463 toneladas, lo que representó más de 3740 millones de pesos, siendo Michoacán, Baja California y Guanajuato, los estados con mayor superficie plantada (SIAP, 2014). La importancia del cultivo de la fresa no se basa solamente en la superficie destinada a su cultivo, también es generador de divisas para el país debido a la exportación de la fruta, principalmente a los EE UU, además de que su cultivo requiere mucha mano de obra, dado que la mayoría de las actividades se realizan de manera manual, adicionando los jornales utilizados durante su procesamiento industrial.

Entre las problemáticas que enfrenta el cultivo de la fresa, se puede señalar la susceptibilidad de las variedades comerciales a las plagas y enfermedades. Para este último caso, la fresa puede ser afectada por un gran número de enfermedades; Maas (1984) describe 104 diferentes, de las cuales 24 corresponden a enfermedades fungosas que afectan las raíces y la corona de las plantas, destacándose entre estas últimas aquellas provocadas por los hongos habitantes del suelo, como: *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp. y *Verticillium albo atrum*, entre otros, los cuales provocan enfermedades tipo “secadera”. Para su control se han utilizado diversos métodos entre los que sobresalen el uso de fumigantes y fungicidas con los consecuentes riesgos de contaminación del medio ambiente. Otros fitopatógenos de la fresa habitantes del suelo son los nematodos *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Xiphinema* spp., *Aphelenchoides fragariae*, *Ditylenchus dipsaci* y *Belonolaimus* spp., además de la bacteria vascular *Pseudomonas solanacearum* (Maas, 1984).

Los fumigantes agrícolas son productos de amplio espectro de acción usados contra diversos fitopatógenos del suelo. No son selectivos, por lo que es necesario que su aplicación se realice previa al establecimiento del cultivo. El metam sodio y el bromuro de metilo son fumigantes que han mostrado eficacia en el control de diversos patógenos del suelo. Este último fumigante, aunque muy eficiente, ha tenido que ser retirado del mercado debido a que daña la capa de ozono, razón por la cual se han realizado diversas investigaciones para encontrar productos alternativos. Stromberger *et al.* (2005) evaluaron fumigantes que pudieran sustituir al bromuro de metilo tales como la cloropicrina, el 1,3-dicloropropeno, el iodometano y el bromuro

de propargil, encontrando potencial de uso en ellos al tener un efecto de control sobre algunos hongos habitantes del suelo, pero con la desventaja de también ser potencialmente contaminantes del ambiente.

La alternativa que aquí se presenta es el uso de ozono, el cual es un producto inocuo para el suelo, el agua o los productos agrícolas. Tiene además un amplio espectro de acción, por lo que su aplicación puede servir para controlar diversas especies no solo de hongos fitopatógenos, sino también de bacterias y nematodos, además de que puede ser aplicado sobre el cultivo ya establecido, con la ventaja de ser usado en el momento que sea necesario, contrastando con los productos fumigantes de acción más fuerte que, aunque con demostrada acción contra organismos fitopatógenos, pueden tener un efecto tóxico sobre las plantas que posteriormente se establezcan, como lo demostraron Peeden *et al.* (2011), quienes encontraron que aunque las poblaciones de los hongos fitopatógenos *Pythium* y *Fusarium* se redujeron de 3255 y 10 058 a 1175 y 1096 UFC g⁻¹ de suelo seco, respectivamente, la residualidad del bromuro de metilo después de cuatro semanas de su aplicación, ocasionó que el follaje de las plantas de fresa se redujera de 29.8 a 10.4 g de peso seco planta⁻¹.

Por ser un potente agente oxidante, el ozono ha sido utilizado como germicida en la industria alimenticia (Naitou y Takahara, 2008) y en el tratamiento de agua de uso urbano, para el control de un amplio rango de organismos patógenos, incluyendo bacterias, protozoos y virus (EPA, 1999; Galvis *et al.*, 2005). También se ha demostrado su efecto al aplicarlo en forma de gas sobre hongos que afectan productos vegetales en el almacén; Vijayanandraj *et al.* (2006), encontraron alteraciones en la germinación de esporas y la morfología colonial al aplicar ozono sobre *Aspergillus niger*, hongo causante de la pudrición negra de la cebolla. Tiedemann (1992), reportó un incremento de la susceptibilidad de plantas de trigo al hongo *Septoria nodorum*, al exponer su follaje a concentraciones de 80, 160 y 240 µg m⁻³ de ozono; en contraste la resistencia de las mismas plantas, pero inoculadas con el hongo *Bipolaris sorokiniana*, se vio incrementada cuando las concentraciones de ozono fueron altas, lo que sugiere un efecto ambivalente del ozono al ser capaz tanto de predisponer a las plantas al ataque de fitopatógenos como a inducirles resistencia a esos mismos microorganismos (Zuccarini, 2009). Además del efecto del ozono sobre hongos fitopatógenos, este gas ha resultado también efectivo contra algunas bacterias, como lo demostraron Mohan

et al. (2005), al lograr una reducción de la viabilidad de *Xanthomonas oryzae*, por lo que sugirieron lavar la semilla de arroz con agua ozonizada y con ello evitar posteriores brotes de la enfermedad en el campo.

Adicional al efecto del ozono sobre diversos microorganismos, se ha demostrado que este gas puede alterar la morfología y fisiología de las plantas. En concentraciones moderadamente elevadas su efecto sobre las plantas puede ser negativo, como lo demostró Volk *et al.* (2006), al encontrar una disminución de la productividad de gramíneas establecidas en una pradera, lo cual es consecuencia de diversos cambios bioquímicos y moleculares que se dan en las plantas al interactuar con el ozono como contaminante ambiental (Kangasjärvi *et al.*, 2005; Dizengremel *et al.*, 2009; Wilkinson y Davies, 2009). Contrariamente, otras investigaciones reportaron efectos positivos sobre las plantas, Zuccarini (2009), encontró un efecto elicitor del ozono y la consecuente defensa de las plantas a diferentes tipos de estrés. Varios experimentos han demostrado la capacidad del ozono para estimular la producción y acumulación de fitoalexinas y otras sustancias en diferentes especies de plantas (Keen y Taylor, 1975), por lo que Zuccarini (2009) concluyó que el ozono es un importante elemento que puede ser utilizado en plantas para inducir resistencia a estrés biótico o abiótico, con la particular ventaja del bajo impacto ambiental. No se encontraron trabajos sobre el uso agrícola del ozono aplicado al suelo disuelto en el agua de riego para el control de microorganismos del suelo. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia del ozono disuelto en agua, aplicado en el sistema de riego por goteo, para reducir las poblaciones de bacterias, hongos y nematodos habitantes del suelo en una plantación de fresa, y en consecuencia verificar su posible efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fue utilizada una parcela con una superficie de 23 000 m² dentro de un rancho agrícola comercial ubicado en el kilómetro cinco de la carretera Abasolo-Pastor Ortíz, comunidad de Tamazula del municipio de Abasolo, Gto., con coordenadas 20° 24' 59.03" N y 101° 33' 59.54" O y una altitud de 1701 m. Para poder aplicar de manera práctica los fumigantes ajustándose a las condiciones del agricultor, la parcela fue dividida en dos subparcelas, recibiendo una de ellas el tratamiento

con metam sodio, fumigante de amplio uso entre los productores de fresa de la zona, utilizándose como testigo regional, y la otra subparcela fue tratada con ozono. El metam sodio se aplicó el tres de septiembre del 2010 de acuerdo a las recomendaciones técnicas propias del fabricante. En cada subparcela fueron seleccionados al azar 10 sitios de muestreo en donde se tomaron el mismo número de muestras de suelo y planta por fecha; dichos sitios de muestreo fueron permanentes a lo largo de todo el experimento con la finalidad de evitar la variación poblacional espacial de los microorganismos del suelo. Las primeras muestras fueron solo de suelo y se tomaron un día antes de las aplicaciones de metam sodio y ozono. Debido a que el ozono es de acción inmediata, al día siguiente de su aplicación se tomaron nuevas muestras de suelo, mientras que para el caso del metam sodio, que permanece varias semanas haciendo su efecto, las nuevas muestras se tomaron 25 días después de su aplicación. Posteriormente el muestreo fue mensual y consistió de muestras tanto de suelo, con un total de 12 fechas, de septiembre de 2010 a agosto de 2011, como de planta, con un total de ocho fechas, de diciembre de 2010 a agosto de 2011, ya que fue a partir de diciembre que se determinó que las plantas de fresa tenían suficiente tamaño. Tomando como unidad experimental a cada sitio de muestreo, en total se analizaron en el laboratorio 10 muestras de suelo y 10 de plantas por cada tratamiento, en cada una de las fechas señaladas. Dado que el muestreo fue destructivo, en cada ocasión se tomaron muestras de suelo y planta adyacentes al lugar de la toma de la muestra anterior. Las muestras de suelo se tomaron con la ayuda de una barrena a 30 cm de profundidad, mientras que las plantas fueron extraídas del mismo punto de muestreo donde se tomó el suelo. Ambos tipos de muestras se colocaron en bolsas de polietileno y fueron refrigeradas a 4 °C hasta su procesamiento.

La generación de ozono se hizo utilizando un ozonizador marca SOLZAID® modelo S2750 con una capacidad de generación de 3 g de ozono por hora y su aplicación fue a través del riego por goteo. Al aire capturado por este equipo se le extrajo la humedad al forzarlo a pasar por un tubo de metacrilato con desecante; posteriormente el aire se hizo circular por una celda donde se produjo la descarga eléctrica que provocó la excitación de las moléculas de oxígeno y su consecuente transformación en ozono. El ozono así producido fue inyectado durante cinco horas a una bolsa plástica con capacidad de 20 000 litros llena previamente con agua,

procurando iniciar el proceso alrededor de las 4:00 a.m. para lograr una temperatura lo más baja posible. La capacidad oxidante del ozono en el agua para riego fue estimada utilizando un medidor portátil marca HANNA tipo ORP (oxidation and reduction potential), cuidando llegar a una concentración de ozono que alcanzara un poder oxidante entre 400 y 500 mili voltios, momento en que estuvo en condiciones de ser enviada como agua de riego a la subparcela. Esta aplicación se realizó el 28 de septiembre de 2010 después de humedecer el suelo con un riego previo y de la aplicación del ozono en la subparcela correspondiente, en esta misma fecha se realizó la plantación de fresa de la variedad Camino Real (día corto) en ambas subparcelas, bajo un sistema “tres bolillo”, a doble hilera en surcos de 1.2 m de ancho obteniendo una densidad de 100 000 plantas ha⁻¹.

Las poblaciones generales de bacterias, hongos y nematodos habitantes del suelo fueron cuantificadas en las muestras de suelo tomadas. Para la siembra y conteo de las bacterias y hongos se empleó la técnica de diluciones con siembra en placa (Madigan *et al.*, 1997), utilizando agar nutritivo para bacterias y papa dextrosa agar para hongos (DIFCO™). Cada muestra se sembró por triplicado, incubándose las cajas Petri a temperatura ambiente (24-26 °C) por 24 horas para las bacterias y cuatro días para los hongos, después de lo cual se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) presentes. Por otro lado, la cuantificación de nematodos se hizo siguiendo la técnica combinada de tamizado-centrifugado (Barker *et al.*, 1986), expresando el resultado final como número de nematodos por cada 100 mL de suelo.

El crecimiento de las plantas de fresa fue estimado utilizando las plantas recolectadas mensualmente en el campo. Para ello las plantas fueron cuidadosamente

sacadas del suelo con la ayuda de una pala para recuperarlas con todo y raíz y proceder de inmediato a su lavado a chorro de agua corriente hasta que el suelo adherido fue totalmente eliminado, para posteriormente evaluar la masa seca de la raíz y el follaje, después de introducir dichos tejidos a una estufa a 60 °C por 24 horas.

Para cada fecha de muestreo, los datos registrados de las variables dependientes fueron sometidos a la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov para verificar normalidad en cada muestra y a la prueba de Levene para constatar si había homogeneidad de varianzas entre las dos muestras; cuando estos supuestos se cumplieron, se aplicó la prueba T-Student, y cuando no se cumplieron, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney (Statgraphics Plus Ver. 5.1 Professional, 2001), todo lo anterior bajo el criterio de comparación de dos muestras aleatorias independientes, donde los tratamientos fueron antes y después de la aplicación para las poblaciones de los microorganismos del suelo (bacterias, hongos y nematodos), y fueron ozono y metam sodio para el caso del crecimiento vegetal (follaje y raíces).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los Fumigantes sobre las Poblaciones Microbianas del Suelo

Se obtuvieron diferencias estadísticas significativas en las poblaciones de los tres microorganismos, al comparar antes y después de la aplicación de los fumigantes (Cuadro 1). El metam sodio produjo una reducción mayor en las poblaciones de hongos y nematodos, llegando a disminuir hasta 4.8 veces ambos microorganismos, mientras que para el caso

Cuadro 1. Población microbiana del suelo en dos subparcelas, antes y después de aplicar los fumigantes metam sodio y ozono.

Variable de respuesta	Tipo de fumigante	Prueba estadística	Valor de P	Medias	
				Antes	Después
Bacterias (UFC g ⁻¹ de suelo seco)	Metam sodio	T = 2.83376	0.01100**	14.2 × 10 ⁶ a	10.4 × 10 ⁶ b
	Ozono	T = 6.23887	0.00005**	4.30 × 10 ⁶ a	1.2 × 10 ⁶ b
Hongos (UFC g ⁻¹ de suelo seco)	Metam sodio	U = 0.00000	0.00010**	27.5 × 10 ⁴ a†	5.7 × 10 ⁴ b†
	Ozono	T = 6.26960	0.00004**	22.8 × 10 ⁴ a	8.5 × 10 ⁴ b
Nematodos (Nº/100 mL de suelo seco)	Metam sodio	T = 5.6571	0.00000**	36.3 a	7.5 b
	Ozono	T = 3.60033	0.00205**	20.3 a	10.4 b

T = T-Student; U = Mann-Whitney. † Medianas. Medias/Medianas con distinta letra en sentido horizontal indican diferencias significativas.

de las bacterias la reducción fue de solo 1.3 veces. Se confirma con esto la eficacia del metam sodio como fumigante del suelo tal y como se ha demostrado en el pasado al aplicarlo para el control de bacterias (Kritzman y Ben-Yephet, 1989), hongos (Stephens *et al.*, 1999) y nematodos (Boutsis *et al.*, 2011), trayendo como consecuencia de su uso, incrementos en el rendimiento de fresa hasta de un 18 % (Camprubí *et al.*, 2007). En cambio, en el ozono, el mayor efecto se observó en las bacterias, con una disminución de 3.5 veces su población; en los hongos y nematodos, las reducciones fueron de 2.6 y 1.9 veces, respectivamente.

En la dinámica poblacional de bacterias, hongos y nematodos habitantes del suelo, durante el periodo de septiembre de 2010 a agosto de 2011, ocurrió una disminución inicial importante de las poblaciones de los tres microorganismos (Figuras 1, 2 y 3), mostrando posteriormente una tendencia de estabilidad que se extendió hasta el mes de noviembre para las bacterias y los nematodos, y hasta enero para el caso de los hongos.

Algunos trabajos han reportado el efecto del ozono aplicado en forma de gas sobre organismos fitopatógenos, tal es el caso de Igura *et al.* (2003), quienes utilizando agua ozonizada para disminuir las conidias de *Fusarium oxysporum* en condiciones sin suelo, encontraron una disminución de cuatro veces la población inicial de conidias en escala logarítmica cuando emplearon 1 ppm de ozono disuelto en agua a temperaturas de 15, 20 y 30 °C. Asimismo, Nicoué *et al.* (2004), obtuvieron un efecto positivo y significativo del ozono aplicado como gas sobre la disminución de los hongos *Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea*, los cuales ocasionan la pudrición de la fruta de fresa; otros estudios *in vitro* muestran que a concentraciones de ozono de 0.05 y 0.01 ppm después de 36 horas, el conteo de *R. stolonifer* y *B. cinerea* disminuyeron en 99 y 98%, respectivamente. Por su parte, Mohan *et al.* (2005), lograron una reducción en la viabilidad de *Xanthomonas oryzae* con agua ozonizada, por lo que sugirieron lavar la semilla de arroz con agua ozonizada y con ello evitar posteriores brotes de la enfermedad en el campo. Se ha señalado el efecto benéfico del ozono aplicado en forma de gas (1ppm) sobre la disminución en la esporulación y el crecimiento del micelio de hongos que afectan productos vegetales en el almacén (Vijayanandraj *et al.*, 2006). Otros trabajos como el de Santos *et al.* (2016), señalaron la reducción en escala logarítmica de 3.8 veces el conteo de levaduras y la completa inhibición de hongos del género *Aspergillus*

y *Penicillium* en granos de arroz tratados con ozono a una concentración de 5 mg L⁻¹ y un flujo de 13.97 min. Por otro lado, también se han reportado efectos negativos sobre el follaje de plantas de trigo (Tiedemann, 1992), con tratamientos prolongados y altas concentraciones, causando lesiones en las hojas y permitiendo un rápido crecimiento después de la inoculación con *Septoria nodorum* y *Bipolaris sorokiniana*.

En la presente investigación el ozono se disolvió y concentró en el agua, lo que proporcionó la ventaja de ser aplicado en el suelo en donde nuevamente se liberó como gas, interactuando con las poblaciones de microorganismos y contribuyendo a la disminución, tanto de hongos como de bacterias, tal como se ha reportado para este tipo de organismos en la literatura, pero afectó además a los nematodos, para lo cual no se encontraron reportes del uso del ozono para su control. En general, no se encontró información en la literatura sobre un trabajo similar en donde se haya utilizado ozono disuelto en agua de riego para el tratamiento del suelo, con el objetivo de disminuir las poblaciones de microorganismos en el mismo y posteriormente ver el efecto indirecto en el crecimiento vegetal. La fácil volatilidad del ozono, una vez liberado del agua, ayuda a su distribución en el suelo favoreciendo su acción biocida; otros compuestos han demostrado su efectividad deletérea contra microorganismos gracias a su volatilidad; así Chambers *et al.* (2013), demostraron una reducción del crecimiento de *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum acutatum*, *Phomopsis obscurans* y *Gnomonia fragariae* al aplicar compuestos volátiles aplicados en frutos de fresa.

Después de las rápidas disminuciones iniciales de las poblaciones de bacterias, hongos y nematodos mencionadas anteriormente, las dinámicas poblacionales de los tres microorganismos se mantuvieron bajas y relativamente estables, no aumentando significativamente a lo largo de los meses en los que se realizó la evaluación, terminando en agosto de 2011 con aproximadamente el mismo comportamiento inicial después de la aplicación de los fumigantes (Figuras 1, 2 y 3). Además, se pudo observar que para este mismo periodo, los valores de las poblaciones de los tres microorganismos encontradas en la parcela con ozono fueron similares a los valores registrados en el testigo regional donde se aplicó el metam sodio. Cabe mencionar que después de la aplicación inicial de ambos fumigantes en septiembre

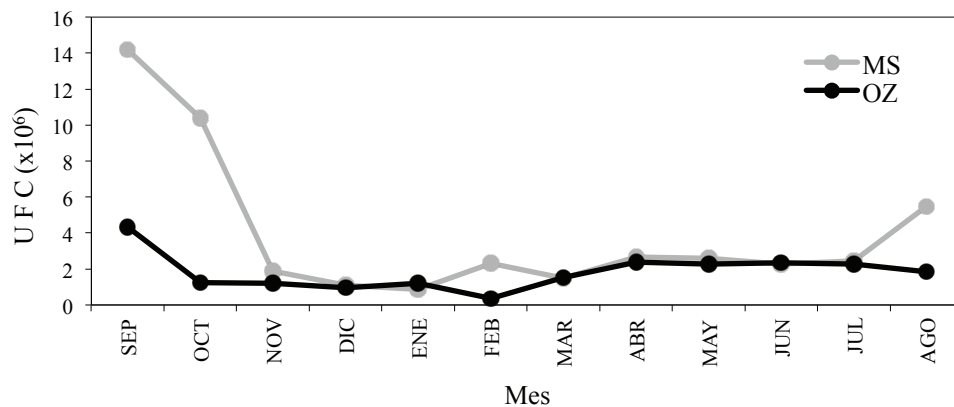


Figura 1. Medias del número de bacterias (UFC) por fecha de muestreo en los tratamientos con metam sodio (MS) y ozono (OZ).

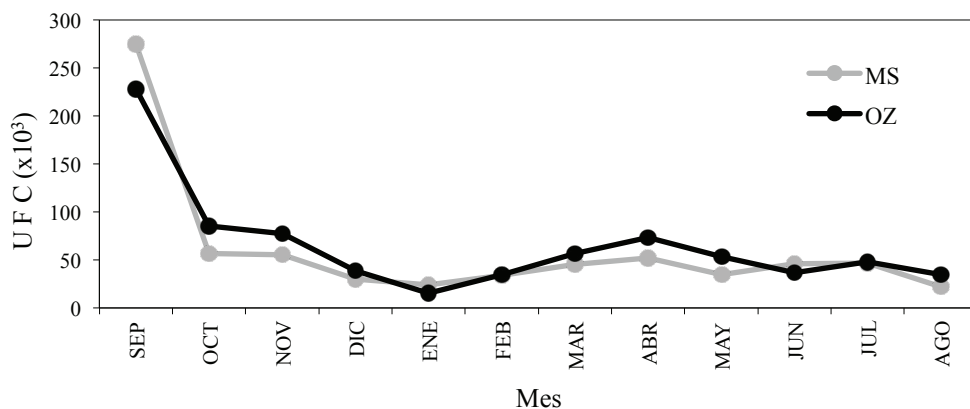


Figura 2. Medias del número de hongos (UFC) por fecha de muestreo en los tratamientos con metam sodio (MS) y ozono (OZ).

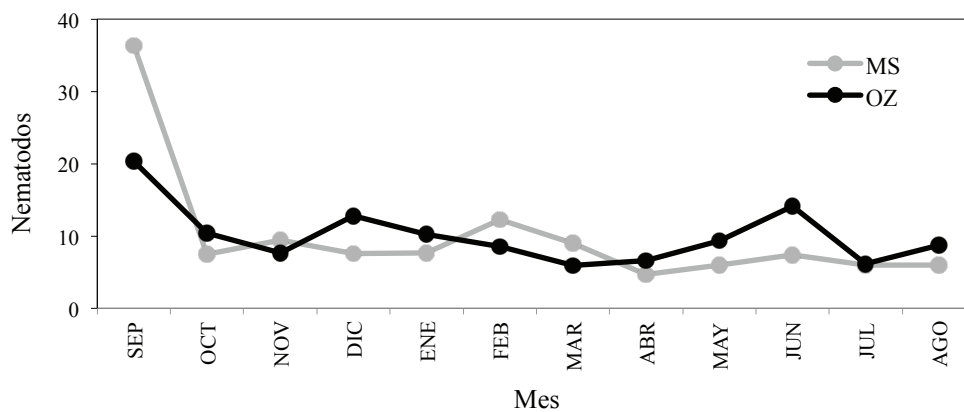


Figura 3. Medias del número de nematodos por fecha de muestreo en los tratamientos con metam sodio (MS) y ozono (OZ).

de 2010, estos no se volvieron a aplicar, razón que explica en parte la posterior tendencia a la estabilidad de las poblaciones microbianas. El efecto deletéreo del metam sodio no perdura con el paso del tiempo, ya que este tipo de productos son biodegradados por microorganismos del suelo (Warton *et al.*, 2001) o se pierden por lixiviación o volatilidad en el ambiente, en particular el ozono utilizado como compuesto fumigante disuelto en el agua de riego permanece tan solo por 30 minutos, aproximadamente.

Efecto sobre el Crecimiento Vegetal

El crecimiento de las plantas de fresa fue evaluado cuantificando la masa seca del follaje o parte aérea y las raíces (Figuras 4 y 5). Se compararon mensualmente las medianas de los pesos de follaje y raíces para los tratamientos de ozono y metam sodio, mediante

la aplicación de la prueba U de Mann-Whitney. De diciembre de 2010 a agosto de 2011, en ningún caso se encontraron diferencias estadísticas significativas entre medianas, solo en el mes de junio se obtuvieron las mayores diferencias numéricas (Figuras 4 y 5), se observó que para el peso del follaje, el tratamiento de metam sodio registró una mediana de 29.8 g en contraste con 15.85 g del tratamiento de ozono ($U = 19.0, P = 0.0685$), similarmente para el peso de raíces, el metam sodio obtuvo una mediana de 8.35 g comparada con 4.30 g obtenidos con el ozono ($U = 19.0$ y $P = 0.0675$). El follaje de las plantas aumentó con el paso de los meses, sobre todo a partir del mes de abril, debido al ascenso en la temperatura del ambiente. Una tendencia similar ocurrió en el crecimiento de las raíces, por estar ambos tejidos relacionados, es decir, que para lograr un crecimiento en el follaje, se requiere que también las raíces lo hagan. Este comportamiento siguió un

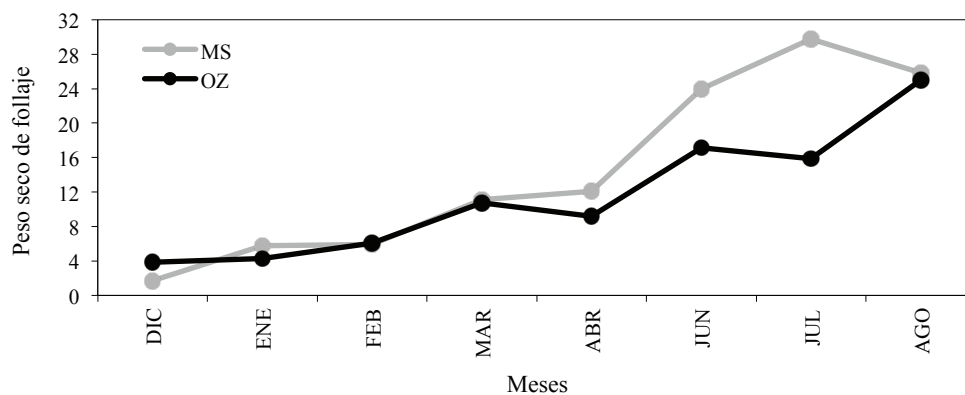


Figura 4. Medianas del peso seco de follaje por fecha de muestreo en los tratamientos con metam sodio (MS) y ozono (OZ).

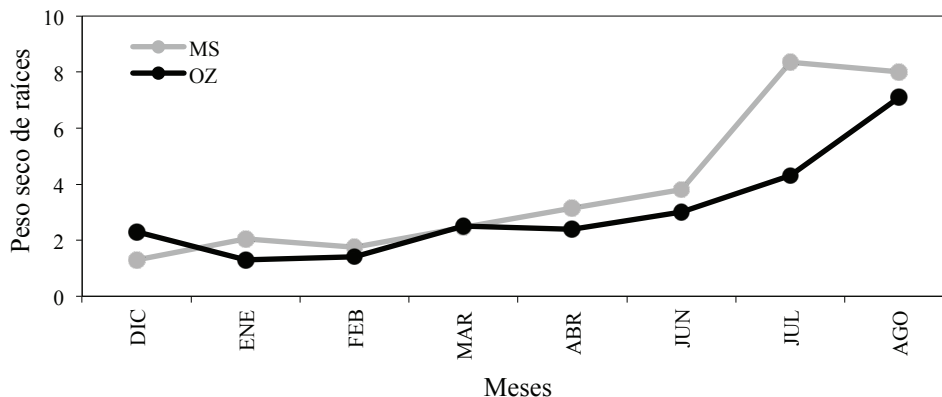


Figura 5. Medianas del peso seco de raíces por fecha de muestreo en los tratamientos con metam sodio (MS) y ozono (OZ).

patrón sigmoide, parecido a lo que se ha demostrado en otros estudios con el crecimiento de hojas, coronas, raíces, flores y frutos a lo largo del ciclo vegetativo de la fresa (Menzel y Smith, 2014). El mayor crecimiento del follaje logrado en la variedad Camino Real fue de 29.8 g de peso seco por planta para el testigo regional y de 25.0 g para el tratamiento con ozono, obtenidos en los meses de junio y julio, respectivamente; lo cual resultó ligeramente menor a lo obtenido por Strassburger *et al.* (2011) quienes en la misma variedad reportaron 32.1 g de peso seco.

La única aplicación de ozono en la subparcela correspondiente disminuyó inicialmente y de manera significativa las poblaciones de bacterias, hongos y nematodos habitantes del suelo, sin embargo, de acuerdo con la información presentada esto no influyó sobre el crecimiento de las raíces y el follaje de las plantas de fresa; de hecho, a partir del mes de marzo ambos crecimientos se mantuvieron por debajo del mostrado en las plantas desarrolladas en la parcela tratada con metan sodio (testigo regional). El efecto estimulante del ozono sobre las plantas de fresa podría haberse presentado solo en el caso de haber realizado un mayor número de aplicaciones del mismo distribuidas a lo largo del tiempo, tomando en consideración que la descomposición del ozono da como resultado oxígeno, que puede ser utilizado por las raíces de las plantas para su respiración y por ende en la absorción de nutrimentos, pero es necesario tener cuidado de no llegar a niveles de concentración de ozono que resulten tóxicos a las plantas, como en el estudio realizado por Keutgen *et al.* (2005), quienes encontraron una disminución del área foliar de las plantas de fresa al exponerlas por dos meses a un ambiente de 78 ppb de ozono, los mismos autores, en un trabajo posterior, modificaron la concentración de ozono a 156 $\mu\text{g m}^{-3}$ no encontrando efecto negativo en el rendimiento del fruto, reportando además que hay variedades de fresa más susceptibles que otras (Keutgen y Pawelzik, 2008). Finalmente, el uso del ozono dirigido al suelo mediante su aplicación con el agua de riego, sigue dos propósitos, el primero busca reducir las poblaciones microbianas fitopatógenas habitantes del suelo, y a consecuencia de esto, el segundo pretende conseguir un estímulo en el crecimiento de las plantas, por lo que se sugiere continuar estudiando el fenómeno, hasta lograr una dosis óptima y un número adecuado de aplicaciones que permitan conseguir resultados satisfactorios.

CONCLUSIONES

- Se mostró un efecto deletéreo sobre hongos, bacterias y nematodos, con la aplicación única de ozono en el agua de riego al inicio del cultivo de fresa, disminuyendo significativamente las poblaciones iniciales de estos organismos en el suelo, y a consecuencia de esta disminución, no se presentó un estímulo positivo sobre el crecimiento del follaje y las raíces de las plantas de fresa de la variedad Camino Real, por lo que se sugiere realizar futuras investigaciones bajo un programa de aplicaciones continuas.
- El metam sodio demostró ser un fumigante efectivo contra los tres tipos de microorganismos evaluados, habiendo reducido las poblaciones de nematodos y hongos en una mayor proporción que el ozono.

LITERATURA CITADA

- Barker, K. R., J. L. Townshend, G. W. Bird, I. J. Thomason, and D. W. Dickson. 1986. Determining nematode population responses to control agents. pp. 283-296. *In*: K. D. Hickey (ed.). Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. APS Press. St. Paul, MN, USA.
- Boutsis, G., G. P. Stamou, and M. D. Argyropoulou. 2011. Short term effects of soil disinfection with metham sodium and organic alternatives on nematode communities. *Commun. Ecol.* 12: 161-170.
- Camprubí, A., V. Estaún, M. A. El Bakali, F. Garcia-Figueres, C. Calvet. 2007. Alternative strawberry production using solarization, metham sodium and beneficial soil microbes as plant protection methods. *Agron. Sust. Dev.* 27: 179-184.
- Chambers, A. H., S. A. Evans, and K. M. Folta. 2013. Methyl anthranilate and gamma-decalactone inhibit strawberry pathogen growth and achene germination. *J. Agric. Food Chem.* 61: 12625-12633.
- Dizengremel, P., D. Le Thiec, M. P. Hasenfratz-Sauder, M. N. Vaultier, M. Bagard, and Y. Jolivet. 2009. Metabolic-dependent changes in plant cell redox power after ozone exposure. *Plant Biol.* 11: 35-42.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1999. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual. Office of Water, Environmental Protection Agency. Washington, DC, USA.
- Galvis C., A., G. Aponte M., D. F. Echeverry I., M. I. González M., y D. A. Cardona Z. 2005. Evaluación del funcionamiento de un generador de ozono a escala piloto en la desinfección de agua para consumo humano. *Ing. Compet.* 7: 65-72.
- Igura, N., M. Fujii., M. Shimoda, and I. Hayakawa. 2004. Inactivation efficiency of ozonated water for *Fusarium oxysporum* conidia under hydroponic greenhouse conditions. *J. Int. Ozone Assoc.* 26: 517-521.
- Kangasjärvi, J., P. Jaspers, and H. Kollist. 2005. Signaling and cell death in ozone-exposed plants. *Plant Cell Environ.* 28: 1021-1036.

- Keen, N. T. and O. C. Taylor. 1975. Ozone injury in soybeans, isoflavonoid accumulation is related to necrosis. *Plant Physiol.* 55: 731-733.
- Keutgen, A. J., G. Noga, and E. Pawelzik. 2005. Cultivar-specific impairment of strawberry growth, photosynthesis, carbohydrate and nitrogen accumulation by ozone. *Environ. Exp. Bot.* 53: 271-280.
- Keutgen, A. J. and E. Pawelzik. 2008. Influence of pre-harvest ozone exposure on quality of strawberry fruit under simulated retail conditions. *Postharv. Biol. Technol.* 49: 10-18.
- Kritzman, G. and Y. Ben-Yephet. 1989. Effect of metham sodium on several bacterial diseases. *Acta Hort.* 255: 49-54.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, and J. Parker. 1997. *Brock biology of microorganisms*. Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ, USA.
- Mass, J. L. (ed). 1984. *Compendium of strawberry diseases*. American Phytopathological Society (APS). Madison, WI, USA.
- Menzel, C. M. and L. Smith. 2014. The growth and productivity of Festival strawberry plants growing in a subtropical environment. *New Zealand J. Crop and Hort. Sci.* 42: 60-75.
- Mohan, N., K. Patel, K. Padmanabhan, and S. Ananthi. 2005. Ozone for plant pathological applications. *Ozone: Sci. Engin.* 27: 499-502.
- Naitou, S. and H. Takahara. 2008. Recent developments in food and agricultural uses of ozone as an antimicrobial agent-food packaging film sterilizing machine using ozone. *Ozone: Sci. Engin.* 30: 81-87.
- Nicoué, E. E., J. P. Emond, J. C. Vuilleumard, and M. C. do Nascimento Nunes. 2004. Destruction de *Rhizopus stolonifer* et *Botrytis cinerea* par des traitements ozone/ions. *Phytoprotection* 85: 81-87.
- Peeden, K., B. Liu, and F. Louws. 2011. Microbial ecology of soils and strawberry roots in non-treated soils that appear to enhance plant growth compared to fumigated soils. *Phytopathology* 101: S139.
- Santos, R. R., L. R. D. Faroni, P. R. Cecon, A. P. S. Ferreira, and O. L. Pereira. Ozônio como agente fungicida em grãos de arroz. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.* 20: 230-235.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2014. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México. <http://www.siap.gob.mx> (Consulta: octubre 23, 2014).
- Statgraphics Plus. Ver. 5.1 Professional. 2001. STSC and Statistical Graphics Corporation. Bakersville, MD, USA.
- Stephens, P. M., C. W. Davoren, and T. Wicks. 1999. Effect of methyl bromide, metham sodium and the biofumigants Indian mustard and canola on the incidence of soilborne fungal pathogens and growth of grapevine nursery stock. *Aust. Plant Pathol.* 28: 187-196.
- Strassburger, A. S., R. M. N. Peil, J. E. Schwengber, D. de Souza M., and C. A. Barbosa M. 2011. Strawberry growth: Effect of cultivar and plant position in the bed. *Cienc. Rural* 41: 223-226.
- Stromberger, M. E., S. Klose, H. Ajwa, T. Trout, and S. Fennimore. 2005. Microbial populations and enzyme activities in soils fumigated with methyl bromide alternatives. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69: 1987-1999.
- Tiedemann, A. V. 1992. Ozone effects on fungal leaf diseases of wheat in relation to epidemiology. *J. Phytopathol.* 134: 177-186.
- Vijayanandraj, V. R., P. D. Nagendra Prasad, N. Mohan, and M. Gunasekaran. 2006. Effect of ozone on *Aspergillus niger* causing black rot disease in onion. *Ozone: Sci. Engin.* 28: 347-350.
- Volk, M., P. Bungener, F. Contat, M. Montani, and J. Fuhrer. 2006. Grassland yield declined by a quarter in 5 years of free-air ozone fumigation. *Global Change Biol.* 12: 74-83.
- Warton, B., J. N. Matthiessen, and M. M. Roper. 2001. The soil organisms responsible for the enhanced biodegradation of metham sodium. *Biol. Fertil. Soils* 34: 264-269.
- Wilkinson, S. and W. J. Davies. 2009. Ozone suppresses soil drying -and abscisic acid (ABA)- induced stomatal closure via an ethylene dependent mechanism. *Plant Cell Environ.* 32: 949-959.
- Zuccarini, P. 2009. Tropospheric ozone as a fungal elicitor. *J. Biosci.* 34: 125-138.