

# SUPERVIVENCIA DE BACTERIAS COLIFORMES FECALES EN CULTIVO DE CEBOLLA (*Allium cepa* L.) IRRIGADA CON AGUAS CLOACALES MUNICIPALES.

Ricardo Corona Salas \*

## Resumen

Se realizó un ensayo para comparar el efecto del riego con aguas cloacales, aguas blancas y ambas en forma alterna en dos etapas diferentes del cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.), determinándose la contaminación bacteriológica de las aguas y bulbos. De los resultados obtenidos se demostró que el uso de las aguas cloacales para el riego por escorrentía en cultivos hortícolas, como la cebolla, originaron contaminación fecal en el producto comestible, detectándose la presencia de bacterias como *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en los estratos internos del bulbo. Las cebollas contaminadas, almacenadas por 24 días a temperatura ambiente, mantuvieron la población de bacterias coliformes fecales, aunque para ese momento no se detectó la presencia de *Escherichia* ni *Salmonella*.

## Abstract

An assay was conducted on onion (*Allium cepa* L.) to determine the contaminant effect of irrigation with municipal sewage compared to alternate irrigation with normal water. The experiment was performed during two stages of growth of the crop. The degree of contamination of both the bulbs and the irrigation water resulted in high fecal contamination of the edible portions. Bacteria of the genera *Escherichia* and *Salmonella* were detected inside the onion bulbs. After storage for twenty four days, at environment temperature, the levels of fecal bacteria remained high, although *Escherichia* and *Salmonella* were no longer detected.

## Introducción

La sanidad microbiológica de un alimento representa un elemento de primer orden en sus cualidades de consumo. Son numerosos los problemas que ocasiona la contaminación microbiológica de los mismos, pudiéndose presentar desde leves trastornos gastrointestinales hasta patologías graves que pueden causar la muerte. Todo ello relacionado con el tipo de microorganismo contaminante, tratamiento del alimento previo a la ingestión, a la cantidad de microorganismos que alcanzan a ingresar al tracto digestivo y a las condiciones fisiológicas del consumidor.

Los productos hortícolas son de consumo masivo y en muchos casos son ingeridos en forma fresca, sin un proceso previo de cocción o tratamiento que garantice su saneamiento microbiológico; por lo que, algunos de los microorganismos contaminantes pueden pasar libremente al interior del organismo.

En base a las características propias de cada cultivo hortícola y a las prácticas agronómicas de irrigación, se establece la mayor o menor posibilidad de contaminación microbiológica del producto comestible por el contacto

con el suelo y aguas de riego (Wolf, 1972). La cebolla (*Allium cepa* L.), presenta características de cultivo que la ubican dentro de los productos más susceptibles de contaminarse por esta vía; además, de presentar una conformación anatómica durante las fases de crecimiento y desarrollo que permite la incorporación y permanencia de estos organismos contaminantes en el mismo.

En la Región Centrooccidental, existe importantes extensiones de tierras dedicadas a cultivos hortícolas; entre estas, la cebolla representa uno de los principales rubros. En muchas de estas áreas es común emplear aguas contaminadas con desechos cloacales, para el riego de estos cultivos.

Entre los agentes etiológicos causantes de trastornos gastrointestinales y que ocupan, en las estadísticas, los primeros lugares como causa de mortalidad infantil en Venezuela, se encuentran las bacterias (MSAS, 1982). Estas constituyen las principales causantes de las llamadas diarreas infecciosas y se señala a la ingestión de agua como la primera ruta de infección; encontrándose además que ésta es posible por el lavado e irrigación de frutas y vegetales con aguas contaminadas (Atlas y Bartha, 1981). Fundamentalmente se reportan los siguientes géneros bacterianos: *Salmonella*, *Shigella*

\* Prof. Departamento Agrobiológico, Decanato de Agronomía, UCLA.

*Escherichia*, *Leptospira*, *Pasteurella*, *Vibrio*, y *Micobacterium* (Riley, 1971; Mitchell, 1972; Colwell, 1979).

La mayoría de las bacterias antes señaladas, son representantes de las llamadas enterobacterias, formando parte de un grupo específico denominado "coliformes", debido a su semejanza morfológica con las bacterias encontradas en el tracto intestinal. Cada uno de estos géneros está representado por un gran número de especies y serotipos. Constituyen bacterias en forma de bacilos, gran negativos, móviles por flagelos peritricos o inmóviles, pueden ser cápsulados o no y generalmente no forman esporas (Buchanan y Gibbons, 1974).

Estas bacterias que están con frecuencia presentes en aguas cloacales, también se pueden encontrar en ríos y lagos contaminados con heces humanas y de otros animales de sangre caliente, siendo las excretas y los desechos cloacales la principales fuentes de patógenos que pueden encontrarse en el agua (Mitchell, 1972; Hiraishi y Horie, 1982). Sin embargo, la cantidad y tipo de las bacterias presentes en el agua, puede variar de un año a otro y de una comunidad a otra (Mitchell, 1972). La mayor cantidad de bacterias enteropatógenas o coliformes, se encuentra en los lugares donde se está recibiendo el efluente de agua cloacal (Carrillo et al., 1985).

El uso de aguas cloacales con fines de riego es común en algunas regiones del país, lo que representa un riesgo para el agricultor que está en peligro de contaminarse y de sufrir algún trastorno de salud y para las cosechas, por representar una fuente de contaminación potencial (Mitchell, 1972; Wolf, 1972).

Algunos estudios reportan la presencia de bacterias del tejido sano de frutas y hortalizas, destacándose la presencia de Enterobacterias (Zdenka et al., 1963). La supervivencia y permanencia de estos grupos bacterianos en el tejido vegetal, en el agua y en el suelo, obedece a la incidencia de múltiples factores ecológicos (Mitchell, 1972).

### Materiales y Métodos

El ensayo se realizó en una parcela del campo experimental del Departamento de Agricultura de la Escuela de Agronomía

Núcleo Obelisco de la Universidad Centroccidental "LISANDRO ALVARADO". Los suelos fueron analizados en sus cualidades mecánicas y químicas. Se emplearon para el riego dos tipos de agua, según su calidad bacteriológica: agua potable ó blancas, tomadas del acueducto de la ciudad, y otras tomadas del río Turbio a la altura del Caserío Veragacha (municipio Iribarren, Estado Lara). Para la recolección, traslado y manejo de éstas últimas, se dispuso de un tanque cisterna de 2000 litros de capacidad y de una bomba.

El área del cultivo fué arada, rastreada y conformada para servir de semillero y luego para soportar el cultivo hasta la cosecha. Se diseñaron 16 parcelas de un metro cuadrado cada una, donde se distribuyeron cuatro tratamientos con cuatro replicaciones, los tratamientos fueron: riego con aguas negras desde la siembra hasta el final del cultivo (T1); riego con aguas negras desde la siembra hasta el trasplante y luego con aguas blancas (T2); riego con aguas blancas desde la siembra hasta el final del cultivo (T3); y riego con aguas blancas desde la siembra hasta el trasplante y luego con aguas negras hasta el final del cultivo (T4).

El período de cultivo se extendió entre octubre de 1986 y febrero de 1987. Se elaboró un cronograma de los aspectos microbiológicos y eventos a tomar en cuenta según la biología del cultivo; de esta forma se enumeraron los días en forma consecutiva desde la siembra. El riego se efectuó según los tratamientos propuestos con una frecuencia variable de acuerdo a la edad de las plantas. Al momento de la cosecha se recolectó la totalidad de los bulbos y se almacenaron en cajas de cartón a temperatura ambiente.

Para los análisis microbiológicos se realizaron muestreos de las aguas y de los bulbos. De las aguas blancas y negras se realizaron muestreos semanales durante todo el ciclo del cultivo. En cuanto a los bulbos, se procedían a tomar muestras de los mismos cuando su estado de crecimiento y desarrollo estuvo completo, desde el punto de vista comercial; se efectuaron muestreos el día 111 posterior al último riego, el día 128 de la cosecha y luego de 24 días, el día 152 de almacenamiento. Para estos muestreos se procedió a seleccionar al azar, de cada lote,

tres bulbos que fueron higienizados exteriormente, se les eliminó las hojas secas, raíces y catáfilos superficiales; se lavaron con agua jabonosa, se enjuagaron con agua limpia, se sumergieron con agua destilada y se escurrieron. Luego se efectuaron incisiones en forma aséptica y se extrajo trozos profundos de los mismos. Estos trozos se manipularon asépticamente para la aplicación de los análisis microbiológicos propuestos.

Mediante los análisis realizados se determinó el conteo total bacteriano (COVENIN, 1978), colimetría total y fecal y pruebas para detectar la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. (COVENIN, 1977 y 1979).

### Resultados y Discusión

Los resultados de los análisis microbiológicos efectuados a las aguas de riego se presentan en el Cuadro 1, donde se expresan las variaciones de las poblaciones bacterianas presentes en las aguas usadas para el riego durante el ciclo del cultivo de

cebolla. En la columna A, se demuestra como las aguas blancas presentan valores relativamente bajos comparados con los valores obtenidos para las aguas negras. Similar comparación se presenta en las columnas B y C, demostrándose una contaminación fecal altamente significativa. En la columna D se observaron los resultados de la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en las aguas negras empleadas en el ensayo. Estos resultados demuestran que durante el ciclo del cultivo los tratamientos que fueron irrigados con aguas negras, recibieron en todo momento un alto aporte en cuanto a contaminación bacteriológica fecal.

Los resultados de los análisis microbiológicos aplicados a los bulbos de cebolla obtenidos de cada tratamiento, se presentan en el Cuadro 2, donde se observa una sensible disminución de los niveles bacterianos en los bulbos a medida que transcurre el tiempo. El análisis de estos resultados no muestra diferencia estadística. Esto indica que durante el período de muestreo, incluidos los 24 días de

Cuadro 1. Variaciones Poblacionales de las bacterias totales y coliformes presentes en las aguas usadas para el riego del cultivo de cebolla. \*

Semana	UFC x 10 <sup>4</sup>		UFC x 10 <sup>3</sup>		UFC x 10 <sup>3</sup>		Presencia			
	Bacterias por ml.		Coliformes totales por 100 ml.		Coliformes fecales por 100 ml.		<i>E. coli</i>		<i>Salmonella</i>	
	B	N	B	N	B	N	B	N	B	N
1	0,50	750	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
2	0,45	800	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
3	0,30	430	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
4	0,55	525	0	3500	0	1900	-	+	-	+
5	0,80	680	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
6	0,35	730	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
7	0,40	840	0	>4800	0	1900	-	+	-	+
8	0,30	700	0	3500	0	1650	-	+	-	+
9	0,38	650	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
10	0,35	530	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
11	0,46	590	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
12	0,40	630	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
13	0,42	600	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
14	0,39	580	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
15	0,44	640	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+
16	0,40	680	0	>4800	0	>2400	-	+	-	+

B: Aguas Blancas

N: Aguas Negras

\* Promedios de cuatro repeticiones



almacenamiento (día 152), los bulbos de cebolla presentan altos niveles de contaminación bacteriana, comparable a la presentada luego de finalizado el cronograma de riego (día 111).

En cuanto al análisis por tratamiento aplicado, se observa que los niveles bacterianos encontrados, son mayores en el tratamiento T1; luego le sigue en magnitud el T4; en el mismo orden sigue T2 y por último T3. El análisis de estos resultados indica una diferencia altamente significativa entre tratamientos y a la vez determina que esta diferencia se refiere a la comparación entre el tratamiento T1 y el resto de los tratamientos, no existiendo diferencia entre los tratamientos T2, T3 y T4 entre sí. Esto significa que solo el tratamiento T1 presenta niveles de contaminación bacteriana significativa, originada por el uso de aguas negras para el riego.

Cuadro 2. Variaciones poblacionales de las bacterias en los bulbos de cebolla obtenidos de cada tratamiento a los 111, 128 y 152 días del cronograma del cultivo. \*

Tiempo (Días)	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
111	136,97	26,40	18,42	38,30
128	86,17	24,02	16,30	17,62
152	93,82	21,37	16,05	14,00

mds (0,01) para tratamientos  $57,75 \times 10^5$  UFC de bacterias por g de bulbo de cebolla.

\* Promedios de 4 replicaciones de los UFC  $\times 10^5$  de bacterias por g de bulbo de cebolla.

T1: Riego con aguas negras desde la siembra hasta el final del cultivo.

T2: Riego con aguas negras desde la siembra hasta el trasplante y luego con aguas blancas.

T3: Riego con aguas blancas desde la siembra hasta el final del cultivo.

T4: Riego con aguas blancas desde la siembra hasta el trasplante y luego con aguas negras.

En el Cuadro 3, se presentan los resultados obtenidos de los contajes poblacionales de coliformes totales y fecales. Aquí se demuestra la similitud en cuanto a la situación señalada en el Cuadro 2. Se observa que para los tratamientos T1 y T4, se reportan altos valores numéricos, comparados con los resultados de los tratamientos T2 y T3. La

presencia de bacterias coliformes en estos tratamientos es debido al uso de aguas negras para el riego, durante todo el ciclo del cultivo (tratamiento T1), o en las etapas finales del ciclo (tratamiento T4).

Los resultados de las pruebas realizadas a los bulbos de cebolla, para detectar la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp., demuestran que estas especies sólo están presentes en las muestras obtenidas de los tratamientos T1 y T4, para el día posterior al último riego (día 111 del cronograma del ensayo). No se detectó la presencia de estas bacterias en las otras muestras de estos tratamientos; ni en ninguna de las muestras obtenidas de los tratamientos T2 y T3.

Los resultados presentados demuestran que los bulbos de cebolla irrigados con aguas cloacales, permanecen contaminados con bacterias coliformes fecales aún después de 24 días de almacenamiento a temperatura ambiente (28° C). Pero a la vez se demuestra que las especies de los géneros *Escherichia coli* y *Salmonella* no sobreviven en los bulbos por largos periodos de tiempo y que en el lapso de 17

Cuadro 3. Variaciones poblacionales de las bacterias coliformes en los bulbos de cebolla obtenidos de cada tratamiento a los 111, 128 y 152 días del cronograma del cultivo. \*

Tiempo (Días)		Tratamientos			
		T1	T2	T3	T4
111	CT	738,50	0,62	0,00	1800,75
	CF	537,75	0,00	0,00	1231,50
128	CT	1618,00	0,82	0,05	1335,05
	CF	1200,00	0,00	0,00	1287,50
152	CT	1317,82	0,00	0,00	1052,50
	CF	1200,78	0,00	0,00	912,50

mds (0,01): 12,65 NMP  $\times 10^3$  de coliformes por 100 g de bulbo de cebolla.

CT: Coliformes totales.

CF: Coliformes fecales.

T1: Riego con aguas negras desde la siembra hasta el final del cultivo.

T2: Riego con aguas negras desde la siembra hasta el trasplante y luego con aguas blancas.

T3: Riego con aguas blancas desde la siembra hasta el final del cultivo.

T4: Riego con aguas blancas desde la siembra hasta el trasplante y luego con aguas negras.

días, entre el último riego y la cosecha, esta presencia no fue detectada por los métodos y procedimientos empleados.

### Conclusiones

El uso de las aguas cloacales para el riego de cultivo de cebolla, origina contaminación bacteriana de origen fecal en los bulbos, detectándose la presencia de bacterias como *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en los estratos internos del bulbo; por lo que su consumo representa un riesgo potencial para la salud pública.

Los bulbos de cebolla contaminados con bacterias coliformes, almacenados por periodos de 24 días después de la cosecha, no presentan disminución de niveles de contaminación bacteriana, respecto a los bulbos analizados inmediatamente después de la cosecha; aunque no se detecta en este periodo la presencia de *Escherichia coli* ni *Salmonella* sp.

### Literatura Citada

1. Atlas, R. y R. Bartha. 1981. Microbial Ecology Fundamentals and Applications. Addison-Wesley: N.Y.
2. Buchaman, R.E. y N.E. Gibbons (ed.) 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Wilkins: N.Y.
3. Carrillo, M.; E. Estrada y T. Hazen. 1985. Survival and enumeration of the fecal indicators *Bifidobacterium adolescentis* and *Escherichia coli* in a tropical rain forest watershed. Appl. Environ. Microbiol. 50: 468-476.
4. Cowell, R. 1979. Human pathogens in the aquatic environment. In: R. Cowell and S. Foster. Aquatic Microbial Ecology. Proceeding of the Conference Sponsored by the American Society for Microbiology. Publ. University of Maryland, USA.
5. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1977. Determinación del Número Más Probable de Coliformes Fecales y de *Escherichia coli*. CDU 576.8.093. 25 p.
6. \_\_\_\_\_ 1978. Método para Recuento de microorganismos Aerobios en Placa de Petri. CDU. 902-78. 6 p.
7. \_\_\_\_\_ 1979. Detección de Salmonellae. CDU. 1A.1291. 79. 29 p.
8. Hiraishi, A. y S. Horie. 1982. Species composition and growth-temperature characteristics of coliforms in relation to their sources. J. Gen. Microbiol. 28: 139-154.
9. Ministerio de Sanidad y asistencia social. 1982. Anuario de Epidemiología y estadística Vital. Dirección de Planificación, Presupuesto e Informática. División de Sistemas Estadísticos y Computación. Tomo I. Caracas 343 p.
10. Mitchell, R. 1972. Sources of water Pollution. In: R. Mitchell Water Pollution Microbiology. Wiley Interscience: N.Y.
11. Riley, H. D. 1971. Antibiotic therapy in neonatal enteric disease. Ann. N. Y. Acad. Sci. 176-360.
12. Wolf, H. 1972. The coliforms count as a measure of water quality. In: R. Mitchell. Water Pollution Microbiology. Wiley Interscience: N. Y.
13. Zdenka, S., R. Etingertulczynska y M. Bick. 1963. The flora within the tissue of fruits and vegetables. J. Food Sci. 28: 259-266.