

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA

ÁREA DE PROTECCIÓN VEGETAL



I.T.A INDUSTRIAS AGRARIAS Y ALIMENTARIAS

PROYECTO MONOGRÁFICO

CUANTIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA FÚNGICA Y BACTERIANA EN
EL SUELO ARENADO DE UN CULTIVO BAJO PLÁSTICO EN
ALMERÍA

**Directores: Dr. Julio Ceras Tello Marquina
D. José Ignacio Marín Guirao**

Alumna: Gema María Pérez Molina

Julio, 2014

AGRADECIMIENTOS

A veces me salgo del cuerpo y me veo desde fuera. ¿Qué veo? Una pieza más de este caos que camina en una dirección, rodeado de más piezas que forman un mecanismo que me han acompañado hasta escribir estas líneas.

En el ámbito personal, mi más profundo y sincero agradecimiento a esas dos ángeles que han hecho de mí la persona que hoy soy, por su entera dedicación, su apoyo incondicional y por el amor inmenso recibido, María y Diego, mis padres, el combustible que todo lo hace girar. Cuantas veces se lo agradezca tantas se quedarán cortas, por todo lo que han hecho para que pueda llegar hasta este punto y gracias de antemano por todo lo que vendrá después.

Sirviendo de puente entre el plano personal y profesional, debo mencionar a mis compañeros de carrera y personas que han caminado conmigo durante esta etapa, esas pequeñas piezas que rellenan los huecos vacíos entre pieza y pieza.

Gracias a Ignacio, por compartir sus conocimientos, por las horas de atención dedicadas y por su energía vital para dar ese pequeño empujón que todos, en algún momento, hemos necesitado. A Javier Tello, por la confianza depositada en mí para la realización del presente proyecto. Un placer ha sido teneros como tutores de proyecto, los mejores guías para la culminación de una etapa.

El mundo es demasiado pequeño para caminar solo. Encajar en el caos es difícil y estar rodeados de buenas piezas hace que todo a nuestro alrededor gire bien. A día de hoy puedo decir que, como pequeña pieza formando parte del caos global, giro a la perfección.

“Hoy es siempre todavía”

A. Machado

Índices

ÍNDICE GENERAL

1. Interés y Objetivos	11
1.1. Introducción	12
1.1.1. Importancia económica del sector hortícola en Almería	12
1.2. Interés	13
1.3. Objetivos	15
2. Revisión Bibliográfica	16
2.1. Morfología de los órganos vegetativos y reproductivos de la planta de sandía.....	17
2.1.1. Planta.....	17
2.1.2. Raíz	18
2.1.3. Tallo	18
2.1.4. Hojas.....	18
2.1.5. Flores	19
2.1.6. Fruto	19
2.2. Técnicas de Desinfección de Suelos	20
2.2.1. Desinfecciones Químicas de Suelo	21
2.2.2. Desinfecciones No Químicas del Suelo	29
2.3. Enmiendas orgánicas empleadas en tratamientos de biodesinfección de suelos.....	37
2.3.1. Restos de cosecha	38
2.3.2. Residuos ganaderos	39
2.3.3. Residuos agroindustriales	40
2.4. Microorganismos de los suelos cultivados.....	40
2.4.1. Factores que afectan a la comunidad microbiológica en suelos cultivados	42
2.4.2. Variación de la microbiota no patógena durante un ciclo de cultivo	46
2.4.3. Habitantes e invasores	48
3. Materiales y Métodos	60
3.1. Emplazamiento del ensayo	61
3.2. Características del invernadero.....	62
3.2.1. Estructura	62
3.2.2. Orientación.....	63
3.2.3. Sistemas de ventilación.....	63
3.2.4. Suelo	64

3.2.5 Sistemas de riego	65
3.3. Material Vegetal.....	67
3.4. Técnicas de cultivo	68
3.4.1 Ciclo de cultivo	68
3.4.2 Marco de plantación	68
3.4.4. Recolección	69
3.4.5. Polinización	70
3.5. Riego y fertilización	70
3.6. Clima.....	70
3.7. Diseño experimental y Distribución de tratamientos	71
3.8. Toma de muestras.....	72
3.8.2. Preparación de las muestras de suelo.....	74
3.9. Metodología Analítica	75
3.9.1. Método de las diluciones sucesivas del suelo en agua estéril	75
3.9.2. Método de las trampas vegetales con pétalos de clavel	78
3.10. Análisis estadístico	80
4. Resultados y Discusión.....	81
4.1. Microbiota total presente en las enmiendas orgánicas empleadas	84
4.2. Cuantificación de la microbiota fúngica.....	85
4.2.1. Cuantificación de la densidad de población fúngica en función de los tratamientos.....	85
4.2.2. Cuantificación de la densidad de población fúngica en función de las distintas biodesinfecciones.....	88
4.2.3. Resumen.....	91
4.2.4. Identificación y cuantificación de los géneros de hongos aislados de los distintos tratamientos de desinfección aplicadas al suelo.	93
4.2.5. Resumen.....	95
4.3. Cuantificación de la microbiota bacteriana	98
4.3.1. Cuantificación de la densidad de población de bacterias en función de los distintos tratamientos.....	98
4.3.2. Cuantificación de la densidad de población de bacterias en función de las distintas desinfecciones.....	101
4.3.3. Resumen.....	104
4.4. Evaluación de la presencia de Oomicetos.....	106
4.4.1. Evaluación de la presencia de Oomicetos en función de los distintos tratamientos.....	106
4.4.2. Presencia de población de Oomicetos en función de las distintas biodesinfecciones.....	109

4.4.3. Resumen.....	111
5. Ensayo de Síntesis y Conclusiones	114
6. Bibliografía	116

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de la producción hortícola (1975-2012) en toneladas. Estimación realizada a partir de datos facilitados por CAP,SOIVRE, DGA y datos aportados por empresas comercializadoras del sector (Cajamar, 2013).....	12
Figura 2. Exportaciones sobre producción hortícola total en porcentaje. Estimación realizada a partir de datos facilitados por CAP, SOIVRE, DGA y datos aportados por empresas comercializadoras del sector. (Cajamar, 2012).....	13
Figura 3. Detalle del cultivo de sandía y divisiones de las parcelas.	17
Figura 4. Detalle del fruto del cultivo de Sandía cv. <i>Crisby</i>	20
Figura 5. Detalle de <i>Aspergillus</i> spp. mediante microscopio.	52
Figura 6. Detalle de <i>Penicillium</i> spp. mediante microscopio.	53
Figura 7. Detalle de <i>Trichoderma</i> spp. mediante microscopio.	54
Figura 8. Situación de la finca experimental“Fundación UAL-ANECOOP”. EP.	61
Figura 9. Localización de la finca UAL-ANECOOP. Fuente: Instituto de cartografía andaluza.	61
Figura 10. Plano de la finca experimental “Fundación UAL-ANECOOP”	62
Figuras 11 y 12.Vista exterior del invernadero raspa y amagado donde se realizó el ensayo.	63
Figura 13.Detalle de las balsas en las que se almacena el agua de riego.	65
Figura 14. Detalle del cabezal de riego de la finca experimental UAL-ANECOOP.....	66
Figura 15. Detalle del aspecto exterior del cv. Fenway.	67
Figura 16. Detalle del aspecto exterior de la variedad <i>Crisby</i>	68
Figura 17. Detalle de muestreo por meses.	68
Figura 18: Detalle del marco de plantación de sandía.....	69
Figura 19. Detalle de distribución de las variedades plantadas.....	69

Figura 20a, b. Evolución de los valores de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (%), suministrada por la estación meteorológica UAL-ANECOOP, durante todo el ciclo de cultivo de sandía. a) Exterior del invernadero b) Interior del invernadero.	71
3.7. Diseño experimental y Distribución de tratamientos	71
Figura 21. Distribución de los tratamientos en el invernadero	72
Figura 22. a)Detalle de la eliminación de la capa superficial de suelo con ayuda de una azada. b)Detalle de la extracción de la muestra de suelo con barrena. c)Detalle del embolsado de la muestra de suelo. d)Desinfección de la barrena.	74
3.8.2. Preparación de las muestras de suelo.....	74
Figura 23. Secado de las muestras de suelo a temperatura ambiente.....	74
Figura 24. a)Triturado de la muestra de suelo. b) Tamizado de la muestra de suelo.....	75
Figura 25. Dilución del suelo inicial para la realización de sucesivas diluciones de las distintas muestras de suelo.....	76
Figura 26. Procedimiento para la obtención de diluciones sucesivas. a) Incorporación de los 5ml para obtener la dilución 10^{-2} . b) Extracción de 5ml de la dilución 10^{-2} . c) Incorporación de los 5ml procedentes de la dilución 10^{-2} sobre matraz de 45ml para la obtención de 10^{-3}	76
Figura 27. Incorporación de 10ml pertenecientes a la dilución 10^{-3} a la placa Petri.....	77
Figura 28.a) Materiales utilizados para la adición del medio nutritivo. b) Adición del medio nutritivo Agar-Malta acidificado.....	77
Figura 29. a) Muestras de suelo incubadas a temperatura ambiente, transcurrido el period de 5-7 días. b) Conteo de la microbiota bacteriana edáfica.	78
3.9.2. Método de las trampas vegetales con pétalos de clavel	78
Figura 30. a)Adición de muestras de suelo a placa Petri. b) Vertido de agua sobre la muestra de suelo.	79
Figura 31.a)Capullos de clavel para la extracción de pétalos inmaduros b)Extracción de petalos de clavel inmaduros.....	79
Figura 32. a)Introducción de los 5 pétalos de clavel inmaduros por placa. b) Incubación de las muestras de suelo a temperatura ambiente para su posterior análisis.....	80
Figura 33. Densidad de población fúngica total según distintas materias orgánicas aplicadas mediante biofumigación, expresadas en $\times 10^3$ UFC·g $^{-1}$, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de	

cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo en biofumigación: testigo sin materia orgánica..... 87

Figura 34. Densidad de población fúngica total según distintas materias orgánicas aplicadas mediante biosolarización, expresadas en $\times 10^3$ UFC-g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo en biofumigación: testigo sin materia orgánica..... 88

Figura 35. Densidad de población fúngica según distintas desinfecciones, expresadas en $\times 10^3$ UFC-g⁻¹, antes, antes del trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después de trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + Brassicas); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + Brassicas) + solarización. 90

Figura 36. Densidad de población de bacterias según distintas materias orgánicas aplicadas mediante biofumigación, expresadas en $\times 10^3$ UFC-g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28 y 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo en biofumigación: testigo sin materia orgánica..... 100

Figura 37. Densidad de población de bacterias según distintas materias orgánicas aplicadas mediante biosolarización, expresadas en $\times 10^3$ UFC-g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo en biosolarización: testigo sin materia orgánica + solarización..... 101

Figura 38. Densidad de población bacteriana según distintas desinfecciones, expresadas en $\times 10^3$ UFC-g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70, así como al finalizar el cultivo: 117 en días después de trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + Brassicas); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + Brassicas) + solarización. 103

Figura 39. Presencia del género *Pythium* según distintos tratamientos aplicados al suelo mediante el método de Biofumigación, expresado en % durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). 108

Figura 40. Presencia del género *Pythium spp.* según distintos tratamientos aplicados al suelo mediante el método de Biosolarización, expresado en % durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). 109

Figura 41. Presencia del género *Pythium* según distintas biodesinfecciones, expresado en % durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar: 117 en días después del trasplante (D.D.T.).

Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*) + solarización..... 111

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Alternativas al bromuro de metilo y su empleo en España (Fuente: Bello, 2004; Tello y Bello, 2002).	23
Tabla 2. Lista Comunitaria de la situación actual de sustancias activas de uso desinfectante del suelo.	28
Tabla 3. Análisis del extracto saturado del suelo de la finca.....	64
Tabla 4. Plan de Fertirrigación del cultivo de Sandía	70
Tabla 5. Fecha en días después del trasplante (D.D.T.) en las que se extrajeron los diferentes muestreos.	73
Tabla 6. Poblaciones de hongos y bacterias en las materias orgánicas empleadas en los tratamientos de biodesinfección, expresado en $\times 10^2$ UFC·g ⁻¹ suelo seco.	85
Tabla 7. Efecto de las distintas materias orgánicas aplicadas mediante biofumigación y biosolarización sobre la densidad de población fúngica, valores (media \pm desviación estándar) expresados en UFC·g ⁻¹ de suelo seco antes del trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.).....	87
Tabla 8. Efecto de distintas desinfecciones sobre la densidad de población fúngica, valores (media \pm desviación estándar) expresados en $\times 10^3$ UFC·g ⁻¹ , antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + <i>Brassicas</i>); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + <i>Brassicas</i>) + solarización.....	90
Tabla 9. Presencia o ausencia de géneros de hongos y especies y Oomicetos aislados de las muestras procedentes de los suelos tratados mediante Biofumigación y Biosolarización.....	96
Tabla 10. Variación en la densidad de los principales géneros de hongos aislados antes, durante y al finalizar el ciclo de cultivo de sandía para las diferentes biodesinfecciones aplicadas y el testigo. Valores (media \pm desviación estándar) expresados en 10^3 UFC·g ⁻¹ de suelo seco.	97

Tabla 11. Efecto de las distintas materias orgánicas aplicadas mediante biofumigación y biosolarización sobre la densidad de población de bacterias, valores (media \pm desviación estándar) expresados en UFC·g⁻¹ de suelo seco, antes del trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al final del cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.)..... 100

Tabla 12. Efecto de distintas desinfecciones sobre la densidad de población de bacterias, valores (media \pm desviación estándar) expresados en $\times 10^3$ UFC·g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70, así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*) + solarización. 103

Tabla 13. Variación de la presencia de *Pythium spp.* durante y al finalizar el cultivo de sandía para las diferentes tratamientos aplicados al suelo y el testigo. Valores expresados en porcentaje (%). 108

Tabla 14. Variación de la presencia de *Pythium* durante y al finalizar el ciclo de cultivo para los diferentes métodos de biodesinfección de suelo y el testigo. Valores expresados en porcentaje (%) durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*) + solarización. 110

1. Interés y Objetivos

1. INTERÉS Y OBJETIVOS

1.1. Introducción

1.1.1. Importancia económica del sector hortícola en Almería.

En la provincia de Almería se encuentra la mayor zona de producción hortícola protegida de España y la mayor concentración de invernaderos a escala mundial. Almería representa un 53% del total de la superficie bajo plástico en España (Pérez *et al.*, 2002).

Un hecho diferencial de Almería es la gran incidencia que tiene la agricultura sobre el conjunto de la economía provincial hasta el punto que, durante años, la evolución de la renta y el empleo provincial ha estado determinada por la marcha de la campaña hortícola. Hablar de agricultura en la provincia de Almería, es hablar de la producción hortícola en cultivos intensivos, lo que popularmente se conoce como los invernaderos, ya que, la mayoría de la producción final agraria la aporta este tipo de producción (Cajamar, 2004). Además, la producción final agrícola de Almería representa un 27% y un 6% de la producción final agrícola en Andalucía y España respectivamente, y supone un 19% del PIB provincial y un 28% del empleo total de la provincia.

La superficie invernada alcanzó en Almería, para la campaña 2012-2013 las 30.116 hectáreas, rompiendo con la tendencia a la baja que se arrastraba desde 2006, según la encuesta de superficies y rendimientos de cultivos (ESYRCE) publicada por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). En este sentido, la superficie de hortalizas se ha incrementado un 11% respecto al período 2011/2012, sumando dos campañas de crecimiento consecutivo. De hecho, la campaña 2012/2013 marca un nuevo récord productivo superando en un 2% los resultados del período precedente.

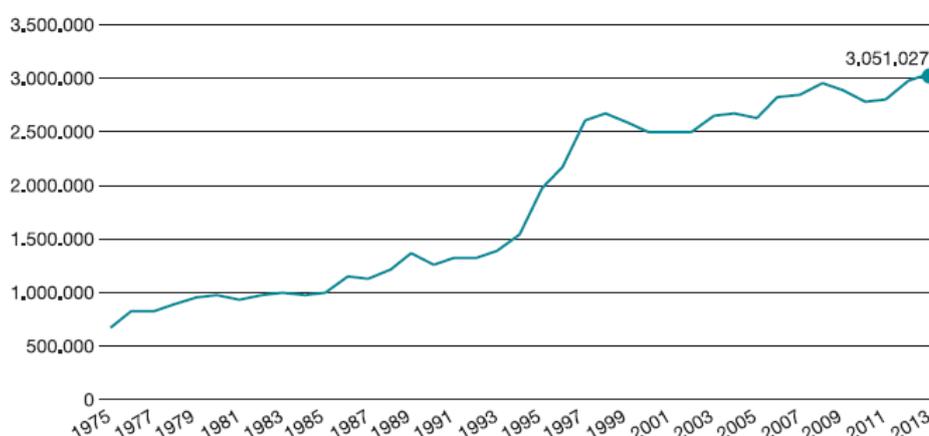


Figura 1. Evolución de la producción hortícola (1975-2012) en toneladas. Estimación realizada a partir de datos facilitados por CAP,SOIVRE, DGA y datos aportados por empresas comercializadoras del sector (Cajamar, 2013).

La situación económica por la que atraviesa España desde 2006, promovió el crecimiento de las exportaciones hortícolas registrando cifras máximas por segundo año consecutivo. No obstante, a pesar del incremento en el volumen de ventas, este ha sido moderado, del 0,5 %, datos publicados por la Secretaría General de Aduanas (Septiembre de 2012 hasta Junio 2013).

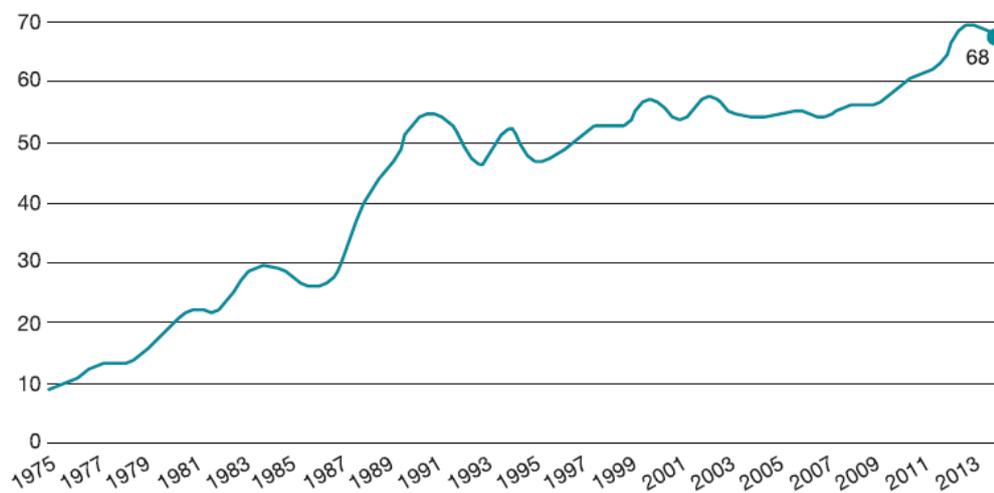


Figura 2. Exportaciones sobre producción hortícola total en porcentaje. Estimación realizada a partir de datos facilitados por CAP, SOIVRE, DGA y datos aportados por empresas comercializadoras del sector. (Cajamar, 2012).

El valor exportado durante la campaña de frutas y hortalizas ascendió a 1.984,6 millones de euros, lo que representa un crecimiento del 11,5% con respecto a la anterior campaña. Nuevamente el tomate ha sido el principal producto de exportación. Asimismo, todos los productos principales registraron avances significativos en el ejercicio, con la col china, la sandía y la judía verde protagonizando los incrementos más señalados. Alemania, Francia, Holanda y Reino Unido son los principales destinatarios de nuestros productos, representando conjuntamente más del 68 % del volumen total exportado.

1.2. Interés

La comarca del Poniente, en la Provincia de Almería, es el mayor exponente europeo, y probablemente mundial, de la agricultura intensiva bajo plástico. El desarrollo sin precedentes de esta actividad agrícola la ha convertido, en la actualidad, en el principal pilar de la economía de la provincia. Considerando este modelo de producción hortícola intensiva, el arenado se ha convertido en una técnica por excelencia en Almería ya que proporciona una serie de ventajas y cualidades que permitió potenciar el desarrollo hortícola a favor de una climatología benigna y de la superación de algunos factores limitantes, como la cantidad de agua, la calidad de las aguas para riego, así como la

salinidad de los suelos entre otros (Bretones, 2003). El arenado tradicional se caracteriza por presentar un perfil artificial formado sobre el suelo original y está constituido por un horizonte permeable de suelo de cañada, un horizonte nutritivo de estiércol y un horizonte protector de arena.

A pesar de los grandes beneficios económicos obtenidos, también se han producido problemas ambientales, que requieren ser analizados con el objeto de diseñar y establecer técnicas que permitan corregirlos y avanzar hacia un desarrollo sustentable de esta actividad. Por lo que, en horticultura se está planteando la necesidad de introducir nuevos modelos de producción que sean más respetuosos con el medio ambiente y seguros desde el punto de vista agroalimentario.

Al respecto, la desinfección del terreno se ha convertido en una práctica cada vez más habitual en cultivos intensivos bajo plástico, donde los métodos de desinfección comúnmente empleados han consistido, principalmente, en la aplicación de fumigantes químicos, los cuales han mostrado numerosos efectos perjudiciales sobre el ambiente y la salud (Abu-Amrieh *et al.*, 1999). En este sentido, y ante la prohibición del uso y retirada del mercado de las materias activas más empleadas y las que mejores resultados reportaban, surgen las técnicas de biofumigación y biosolarización, ambas consideradas técnicas de biodesinfección, basadas principalmente en los mismos principios que los fumigantes convencionales, sólo que, los gases y líquidos generados proceden de la descomposición de la materia orgánica. Así, estas técnicas de biodesinfección permiten el control de enfermedades provocadas por microorganismos telúricos y de microorganismos implicados en la fatiga del suelo (Lacasa *et al.*, 1999, 2002; Fernández *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2004), provocando un efecto mejorador de los microorganismos beneficiosos habitantes del suelo y de aquellos que se encuentran en la propia materia orgánica, no conociéndose hasta el momento, efectos ambientales negativos (Bello, 1998; Dalal, 1998; De Cara *et al.*, 2004). Garbeva *et al.* (2004) concluyen que es la planta la que tiene asociados determinados géneros de hongos, que se repiten una y otra vez, independiente del tratamiento efectuado y que siempre aparecen para unos suelos de similares características, mientras que Subba Rao (1999) refirió que las prácticas culturales son las que influyen en la naturaleza y composición de las especies fúngicas. Además, diversos autores (Guerrero *et al.*, 2003; Martínez *et al.*, 2009) concluyen un mayor desarrollo de las plantas si la biofumigación se realiza con solarización, mientras que Lacasa *et al.* (1999) y Guerrero *et al.* (2004) observaron producciones análogas a las obtenidas tras la desinfección de suelos con bromuro de metilo, la materia activa más empleada hasta el año 2005, año en que fue prohibida, y referencia para las nuevas alternativas. Este aumento de producción podría estar íntimamente ligado al aumento de la microbiota beneficiosa y no patógena.

1.3. Objetivos

La revisión bibliográfica anterior ha servido para justificar el objetivo general de este trabajo que consiste en evaluar el comportamiento de la diversidad y densidad de la microbiota edáfica durante un ciclo de cultivo de sandía, en un suelo arenado, tras la aplicación de diversas materias orgánicas mediante las técnicas de biofumigación y biosolarización y precedido de un ciclo corto de tomate. Para conseguir este fin, se han abordado los siguientes objetivos específicos:

1. Cuantificación e identificación de la microbiota fúngica.
2. Cuantificación de la microbiota bacteriana.
3. Evaluación de la presencia de oomicetos.

2.Revisión Bibliográfica

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Morfología de los órganos vegetativos y reproductivos de la planta de sandía.

El nombre científico de la sandía es *Citrullus Lanatus* Thumb. Pertenece a la familia de las cucurbitáceas, la cual agrupa aproximadamente unos 90 géneros y entre unas 700 y 760 especies entre las que se encuentran calabazas, melones, pepinos y calabacines entre otros. Tipo fanerógamas, Subtipo angiospermas, Subclase metaclamídeas gamopétalas.

2.1.1. Planta

Se trata de una planta anual de desarrollo rastrero. El inicio del desarrollo aéreo de la planta se produce con un solo brote (brote principal), no emergiendo otros brotes hasta que existen 5-8 hojas bien desarrolladas. Una vez completado el primer desarrollo de la planta, se inician las brotaciones de segundo orden en las axilas de las hojas (nudos del tallo) del brote principal. De estos brotes de segundo orden (secundarios), emergen brotes terciarios y así sucesivamente hasta que se conforma la planta cuyo desarrollo vegetativo llega a cubrir 4-5 m².



Figura 3. Detalle del cultivo de sandía y divisiones de las parcelas.

2.1.2. Raíz

La raíz de la sandía es ramificada; la raíz principal se ramifica en raíces primarias y éstas, a su vez, vuelven a subdividirse. La raíz principal alcanza un gran desarrollo en relación con las raíces secundarias, a su vez, puede adquirir una gran profundidad, aunque el resto de las raíces se distribuyen superficialmente de modo amplio (Maroto, 1996).

Actualmente éste órgano carece de importancia, debido a que alrededor del 95% de la sandía que se cultiva en la provincia de Almería es injertada sobre patrón de *C.maxima x C. moschata*. (Camacho, 2003). Estos patrones son totalmente afines con la sandía. Confieren a la parte aérea gran vigor, presentando un desarrollo radicular muy potente con raíces de gran tamaño bien siberificadas (Camacho 1998).

Este híbrido se introdujo en la provincia de Almería a mediados de los 80 para resolver los problemas de fusariosis (agente causal *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*), tras comprobar que la introducción de genes de resistencia a esta enfermedad en algunas variedades comerciales no aseguraba una producción normal en suelos contaminados. Adicionalmente, dicho patrón ofrece resistencia a *Verticilium* y tolerancia a *Pythium* y Nematodos.

2.1.3. Tallo

Los tallos de la sandía son herbáceos, de color verde, recubiertos de pilosidad, trepadores y largos. Poseen una forma cilíndrica, asurcado longitudinalmente y muy piloso, con pelos inclinados cortos y finos, que relucen. Por su débil consistencia se extienden por el suelo de modo rastrero llegando a tener longitudes de 4-6 metros. Poseen zarcillos que pueden ser bífidos o trifidos (según este hendido en dos o tres partes) (Camacho y Fernández, 2000).

2.1.4. Hojas

Las hojas son pinnado-partidas y están divididas en 3-5 lóbulos de apariencia redondeada, que a su vez aparecen divididos en varios segmentos redondeados, presentando entalladuras profundas sin llegar a la nerviación principal. El nervio principal se ramifica en nervios secundarios que se subdividen para dirigirse a los últimos segmentos de la hoja, imitando la palma de la mano. El haz de la hoja tiene apariencia lisa, mientras que el envés presenta aspecto áspero y está recubierto de pilosidades (Reche, 1994).

2.1.5. Flores

Es planta monoica (ambos sexos se presentan en la misma planta), apareciendo las flores solitarias tanto masculinas como femeninas en las axilas de las hojas. La diferenciación de la flor por sexo es sencilla, ya que la flor femenina posee un ovario ínfero que se ve a simple vista (fruto incipiente). El cáliz es de color verde, con sépalos libres y la corola formada por cinco pétalos de color amarillo, atrayendo a los insectos por su color, aroma y néctar (flores entomógamas), de forma que la polinización es entomófila.

Existen dos tipos de flores: masculinas o estaminadas y femeninas o pistiladas, coexistiendo los dos sexos en una misma planta, pero en flores distintas (flores unisexuales). Las flores masculinas disponen de 8 estambres que forman 4 grupos soldados por sus filamentos. Las flores femeninas poseen estambres rudimentarios y un ovario ínfero veloso y ovoide que se asemeja en su primer estadio a una sandía del tamaño de un hueso de aceituna (fruto incipiente), por lo que resulta fácil diferenciar entre flores masculinas y femeninas. Estas últimas aparecen tanto en el brote principal como en los secundarios y terciarios, con la primera flor en la axila de la séptima a la décimo primera hoja del brote principal. Existe una correlación entre el número de tubos polínicos germinados y el tamaño del fruto (Maroto, 1996).

2.1.6. Fruto

El fruto de la sandía es una baya grande, globosa con placenta carnosa y epicarpio quebradizo, generalmente liso, de color, forma y tamaño variable y que puede llegar a los veinte kilogramos de peso. No obstante, los tamaños más frecuentes oscilan entre 6-8 kg. En su interior se encuentran gran número de semillas y un porcentaje de agua entre el 90 y 95%. El color de la corteza es variable, puede ser uniforme, verde oscuro, verde claro o amarillo o bien a franjas de colores amarillento, grisáceo, verde claro sobre fondos de diversas tonalidades verdes. La pulpa de color rojo, rosado o amarillo lleva en su interior las semillas de tamaño variable dependiendo del cultivar (*cv*) y de color variable, negras, marrón o blancas.



Figura 4. Detalle del fruto del cultivo de Sandía *cv. Crisby*

2.2. Técnicas de Desinfección de Suelos

Las técnicas de desinfección en horticultura intensiva representa una práctica crucial para combatir, no sólo a los patógenos de las plantas causantes de la mayoría de las pérdidas económicas ocasionadas en algunos cultivos, sino también malas hierbas y plagas de artrópodos, permitiendo mantener los altos niveles de productividad (Gullino, 2000). En España, las técnicas de desinfección de suelos adquieren una gran importancia en relación a la superficie de cultivos bajo invernadero (Tello, 1998) ya que el control de los patógenos telúricos, en producción intensiva, resulta una tarea complicada porque aunque entre las distintas estrategias de control se encuentran las de rotación y uso de variedades resistentes, ambas son de difícil aplicación debido a la intensidad de cultivo así como a la falta de cultivares resistentes a varios patógenos (Diáñez, 2005).

En general, las prácticas agrícolas intensivas inducen a la repetición de cultivos en un mismo suelo por lo que resulta frecuente que se presenten problemas de acumulación excesiva de hongos patógenos en el suelo que hacen peligrar la viabilidad de los cultivos.

Por todo ello, la desinfección de suelos permanece como una práctica esencial en la horticultura intensiva, para resolver los problemas asociados a la presencia de patógenos, fenómenos de fatiga de suelos y sustratos (Maroto, 1990; Gullino, 2000; Diáñez, 2005).

Las técnicas de desinfección de suelos se pueden clasificar en químicas y no químicas existiendo la posibilidad de combinarlas con la finalidad de mejorar los efectos beneficiosos que estas ofrecen. Entre las técnicas empleadas, la desinfección con fumigantes químicos y el uso de calor tanto seco como húmedo, incluyendo el aprovechamiento de la radiación solar o las desinfecciones con vapor

de agua, son las prácticas de control más difundidas, tanto en cultivos hortícolas como en ornamentales (Diáñez, 2005).

Estas prácticas, son eficaces, cuando se realizan de forma adecuada, permitiendo la eliminación parcial o total de los patógenos del medio hasta unos 35 cm de profundidad (Martínez *et al.*, 2009). Un ejemplo de ello lo aporta el estudio realizado por Greco *et al.*, (1990) donde consiguió controlar *Heterodera carotae* en zanahoria a 35 cm de profundidad en lugar de a 20 cm e incrementar su producción, combinando 100l·ha⁻¹ de 1.3-Dicloropropeno y un periodo de solarización entre 4-8 semanas. Según diversos autores, la desinfección del suelo crea un vacío biológico después de la desaparición casi total de la microbiota presente, que permite la rápida recolonización de los fitopatógenos supervivientes o de otros introducidos accidentalmente (Pyrowolakis *et al.*, 2002; Weller *et al.*, 2002; Westphal y Becker 2001; Westphal y Xing, 2011). Sin embargo, numerosos estudios han demostrado que el hecho de tratar el suelo mediante desinfecciones provoca la proliferación de otra parte de la población microbiológica edáfica (Martínez *et al.*, 2009) como es el caso de bacterias anaeróbicas (Mowlick *et al.*, 2013).

2.2.1. Desinfecciones Químicas de Suelo

Además de por la sencillez de su aplicación, la desinfección química de los suelos se caracteriza por su elevada eficacia insecticida, nematicida, fungicida y herbicida (Barres, 2006). La toxicidad de los productos para tratamientos de suelos es un factor que aconseja limitar su utilización (Cenis, 1991). Barres (2006) afirma que a la hora de seleccionar este tipo de desinfección, conviene conocer el alcance medioambiental de los efectos de su aplicación así como de la evaporación y degradación de los productos químicos, de la formación de metabolitos, de su capacidad de percolación y de su posible traslocación en las plantas.

El fundamento de la desinfección de suelos empleando productos químicos está basado en la capacidad que tienen dichos productos de pasar a estado gaseoso en el momento de ser liberados. Una vez liberados es necesario impedir el escape de dichos gases al medio ambiente reteniéndolos durante el tiempo necesario para que resulte eficaz su utilización.

Junto al Bromuro de metilo, los métodos químicos de desinfección más utilizados han sido: la cloropicrina (PIC), el 1-3 dicloropropeno y los productos generadores de isotiocianato de metilo entre los que se encuentran el metam-sodio y el dazomet.

Bromuro de Metilo y su problemática ambiental

El bromuro de metilo (CH_3Br) es un fumigante empleado a nivel mundial en la agricultura durante los últimos 50 años para el control de insectos, nematodos, patógenos y algunas semillas de malas hierbas (Bell, 1996; Katan, 2005). Al igual que muchos otros fumigantes, poseen riesgos para la salud humana (Abu Amreih, 1999; Burgess *et al.*, 2000; Calvert, 1998) y el medio ambiente, incluyendo la microbiota del suelo (Pelagatti *et al.*, 1998).

Desde hace tiempo, el empleo de fumigantes en el suelo ha sido considerado potencialmente dañino para el medio ambiente y, como consecuencia, se han impuesto muchas restricciones para la regulación o reducción de su uso. Un gran número de los fumigantes actualmente disponibles están estrictamente regulados y, de hecho, algunos de los más efectivos han quedado totalmente prohibidos debido a su daño medioambiental (Gullino *et al.*, 2003).

Una vez, el bromuro de metilo se descompone por radiaciones solares, se libera a la atmósfera un radical bromo que atrae uno de los átomos de oxígeno fuera del ozono para formar monóxido de bromo y oxígeno molecular. Tras una serie de complejas reacciones, el bromo se libera para destruir otra molécula de ozono. Ohr (1996) confirma que de la cantidad total de producto aplicado al suelo aproximadamente un 87% se pierde en la atmósfera en tan solo 7 días y, al alcanza la estratosfera donde sufre una foto-oxidación, liberando átomos de bromo que son responsables de la reducción total de ozono. Debido a este efecto, según el protocolo de Montreal en 1992, se planteó la retirada del Bromuro de Metilo. El Protocolo de Montreal es un tratado medioambiental que fue firmado en el marco de las Naciones Unidas, siendo la base legal para la protección de la capa de ozono estratosférico.

Desde la incorporación de la desinfección de suelo al sistema de cultivo, han sido múltiples los trabajos que recogen información sobre alternativas al BM. El Comité de Opciones Técnicas al Bromuro de Metilo (MBTOC), define una “alternativa” como aquellos tratamientos o procedimientos químicos y no químicos que son técnicamente viables para el control de organismos patógenos permitiendo la eliminación del uso del BM y establece diferencias entre las consideradas “alternativas existentes” y “alternativas potenciales”. Las primeras se corresponden con las que se están aplicando o se han aplicado en alguna región concreta mientras que las últimas están en proceso de investigación o desarrollo (Bello y Díez Rojo, 2004). Estas alternativas, a su vez, se clasifican (Tabla 1) en tres grupos; alternativas químicas, alternativas no químicas y alternativas de control integrado (Rodríguez-Kábana, 1998; Tello y Bello, 2002).

Tabla 1. Alternativas al bromuro de metilo y su empleo en España (Fuente: Bello, 2004; Tello y Bello, 2002).

Alternativas	Cultivos donde son eficaces
Alternativas químicas	
1,3 Dicloropropeno	
Metam Sodio	Fresón y flor cortada
Dazomet	Fresón
Combinaciones	Fresón y pimiento
Alternativas no químicas	
Rotación de cultivos	Hortalizas
Enmiendas orgánicas y Compost	Hortalizas
Biofumigación	Hortalizas, pimiento, flor cortada, vid
Prácticas culturales	Hortalizas
Medidas sanitarias	Todos los cultivos
Uso de semillas libres de patógenos y trasplantes	
Cultivos sin suelo y sustratos	Tabaco, tomate, viveros, flor y pimiento
Variedades resistentes	Tomate, clavel, pimiento
Injertos	Cucurbitáceas, pimiento y tomate
Resistencia Inducida	
Agentes de control biológico	
Solarización	Hortalizas y fresón
Vapor de agua	Flor cortada
Control Integrado	Tomates, hortalizas, pimiento, frutales

*En blanco: Cultivos sin especificar

METAM SODIO. Anhidro (N-metilditiocarbamato de sodio)

Descripción materia activa

Este desinfectante, es la sal sódica del ácido metilcarbámico. Una vez aplicado, y cuando la temperatura del suelo se encuentra entre los 10-25°C, es transformado en metil-isotiocianato, compuesto responsable de la actividad fungicida, nematocida, herbicida e insecticida.

La aplicación de este líquido fumigante se realiza frecuentemente a través del agua, con objeto de que desprenda el isotiocianato de metilo (Reche, 1991). Este compuesto no es gaseoso a temperatura ambiente, por lo que, se difunde a través del suelo disuelto en agua. Las dosis de aplicación oscila entre los 500 y 1.500 l·ha⁻¹, excepto cuando se requiere de una acción herbicida, las dosis de empleo son más elevadas. Una vez incorporado al terreno, se procede a sellar mediante un riego o con un film de plástico durante 15 días; 5 o 6 días antes de sembrar o plantar, debe realizarse una labor de arado para airear y eliminar posibles residuos fitotóxicos.

Una característica del isotiocianato de metilo es su rápida descomposición en compuestos inocuos (Turner y Corden, 1963), por lo que, a pesar de su eficacia, en los últimos años la búsqueda de alternativas se ha centrado en aquellas alternativas biológicas, ya que como indican Matthiessen y Kirkegaard (2006) se prefiere su uso al de agentes sintéticos.

Estos autores hacen referencia a un fenómeno observado en las aplicaciones al suelo con isotiocianato de metilo. Este compuesto es susceptible de ser biodegradado por algunos microorganismos cuando se adaptan al medio. Estos organismos son capaces de usar el pesticida como fuente nutricional y de energía, siendo un fenómeno que ha sido observado en el uso de metam-sodio y en el 1,3-D.

El metam sodio ha sido ampliamente empleado para cultivos hortícolas en España (Pocino, 1997, 1998a, 1998b; Laita, 1998, 2000), llegándose a utilizar de forma asidua en cultivos intensivos de pimiento en la región de Murcia (Cenis y Fuchis, 1988; Lacasa y Guirao, 1997) con resultados fallidos para el control de patógenos (Tello y Lacasa, 1997; 2004).

Sin embargo, para Sullivan (2000), Locascio y Dickson (2001) su efectividad, depende del contacto del desinfectante con los organismos objeto de la desinfección, entendiéndose aquél como el producto de la concentración por el tiempo de exposición. Además, establecen la necesidad de emplear sistemas de sellado eficaces para minimizar las pérdidas por volatilización de metil-isotiocianato, ya que es la clave del poder biocida. De esta forma se mantiene durante 3-4 semanas reteniéndose así el metil-isotiocianato más tiempo, aumenta la temperatura del suelo y mejora su distribución. Su aplicación resulto ser más eficaz cuando se realizaban riegos intermitentes bajo plástico para facilitar el sellado, siendo el plástico VIF el que menos pérdidas por volatilización presento. Pocino (1997) y Laita (1998) corroboran su eficacia cuando se combina con la solarización, aunque ellos trabajaron utilizando para el sellado plástico de polietileno.

En invernaderos con bajos niveles de infección de suelo por patógenos y con pocos años de antigüedad en el cultivo reiterado, se pueden obtener resultados aceptables en berenjena, pimiento,

pepino y tomate, como han señalado los autores. No obstante la aplicación en el mismo suelo de forma continuada, al parecer, presenta una descomposición microbiológica al cabo de dos o tres aplicaciones (Gamliel *et al.*, 2000).

DAZOMET

Descripción materia activa

3,5-dimetiltetrahidro-2H-1,3,5-tiadiazina-2-tiona es un desinfectante que habitualmente ha sido recomendado para el control de nemátodos, hongos del suelo y malas hierbas. Dazomet, en contacto con la humedad del suelo, libera metil-iso-tiocianato difundiéndose en las cavidades del mismo inactivando hongos, bacterias, nematodos, insectos y malas hierbas. Además, dimetil-isotiocianato libera otros compuestos que no generan problemas y que se volatizan rápidamente: metil-amina, formaldehído con reconocida actividad fungicida y bactericida, disulfuro de carbono con actividad nematicida y sulfuro de hidrógeno. Respecto al disulfuro de carbono, incrementa la disponibilidad y favorece la asimilación de calcio, magnesio, potasio y fósforo por parte de la planta (Zanón *et al.*, 2011).

Se fórmula en granulados y estos se aplican al suelo previamente labrado. Con un rotovator se incorpora al suelo, para luego cubrirlo con plástico (Guirao *et al.*, 2004). Se aplica, al igual que todos los fumigantes, en altos volúmenes (dosis que pueden oscilar entre 600 litros y 1200 litros en España), junto con una alta humedad de suelo, ya que sin una humedad adecuada no se observa efecto alguno (El Hadiri *et al.*, 2003).

La eficacia de este desinfectante depende de la uniformidad de su distribución en el suelo. La disgregación en el suelo y el nivel de temperatura deben ser adecuados, para ello se necesita del sellado con un riego abundante para mejorar la distribución (Maroto, 1989). En cuanto a la temperatura del suelo, es un factor determinante para la degradación del compuesto. Temperaturas bajas requieren un tiempo de acción más prolongado debido a que la velocidad de descomposición se ve reducida, mientras que temperaturas elevadas implican una acción más intensa, proceso que se invierte a partir de los 22-25°C cuando los gases escapan más rápido, implicando un tiempo de acción insuficiente (Zanón *et al.*, 2011). La efectividad de este desinfectante, al igual que del resto depende de la descomposición microbiana y de la liberación de metil-isotiocianato y otros compuestos químicos efectivos contra microorganismos, siendo escasa su actividad insecticida o sobre las semillas no germinadas de las malas hierbas (Rodríguez-Kábana, 1998; Maroto, 1989).

Dazomet ha sido aplicado y evaluado contra *Meloidogyne* spp. en pepino en condiciones de cultivo protegido a dosis de 400kg-ha⁻¹, obteniendo una reducción significativa en la población del nematodo con respecto al testigo sin tratar (Cuadra *et al.*, 2009). Inclusive, ha sido ensayado en la desinfección de suelos en invernaderos de pimiento donde no proporciono un nivel de control aceptable (Lacasa *et al.*, 2002; Guirao *et al.*, 2004).

CLOROPICRINA

Descripción materia activa

Se trata de un derivado halogenado en forma líquida al que se le atribuyen efectos fungicidas, unas veinte veces más efectivo nematicidas o herbicidas (Rodríguez-Kábana, 1998; Gullino, 2000). En suelos cultivados habitualmente con pimientos la cloropicrina presentó un efecto más efectivo que la mezcla de 1,3-Dicloropropeno + cloropicrina, incluso proporciona similares niveles de control de *P.capsici* y malas hierbas que el bromuro de metilo pero una eficacia menor frente a *M. incognita* (Guerrero *et al.*, 2004).

Habitualmente, se ha aplicado mezclada con bromuro de metilo o sola, por inyección al suelo, cubriéndolo con plástico, siendo relativamente reciente su utilización en la desinfección de suelos (Van Berkum y Hostra, 1979; Gullino, 2000).

La cloropicrina controla efectivamente los hongos que habitan en los suelos y que infectan a las raíces. Entre los hongos controlados tenemos los pertenecientes a los siguientes géneros: *Ceratobasidium* spp., *Colletotrichum* spp., *Cylindrocarpon* spp., *Fusarium* spp., *Idriella* spp., *Phytophthora* spp., *Pyrenochaeta* spp, *Pythium* spp, *Rhizoctonia* spp. y *Verticillium* spp., de los cuales todos han demostrado haber causado putrefacción de la raíz y/o la enfermedad de marchites (wilt) en fresas (Wilhelm y Koch, 1956; Nelson y Wilhelm, 1956; Wilhelm *et. al.* 1969, 1972; Wilhelm y Nelson 1981a, b). Además, las propiedades biocidas de la Cloropicrina incluyen toxicidad a bacterias patógenas vegetales tales como *Agrobacterium tumefaciens*.

MEZCLA DE DICLOROPROPENO + CLOROPICRINA

Descripción materia activa

La formulación de 1,3 Dicloropropeno se realiza en forma líquido inyectable y de líquido emulsionable, permitiendo así que se aplique en el agua de riego. La actividad desinfectante de este

nematicida, suele completarse con la acción de la cloropicrina, de efectos fungicidas y bactericidas. Los dos productos se difunden en forma de gas, dada la alta presión de vapor de ambos (MBTOC, 1997). Se degradan con facilidad tanto en el aire como en el suelo, por hidrólisis, foto descomposición o metabolización (Aguirre, 1998) y la mezcla presenta posibilidades de ser un sustituto del bromuro de metilo, a expensas de la autorización definitiva por parte de la Comisión Europea. La aplicación de la mezcla de 1,3-Dicloropropeno + cloropicrina en el agua de riego bajo plástico de polietileno se ha mostrado proporcionar un buen control de *Phytophthora capsici*, de malas hierbas y un control aceptable de *Meloidogyne incognita* (Guerrero *et al.*, 2004). La reiteración de la aplicación en el mismo suelo mejora la efectividad de la desinfección, incluso supone mejoras en la producción.

El 1,3-Dicloropropeno, de marcada actividad nematicida, es uno de los componentes más utilizados en la desinfección de suelos contaminados con diferentes hongos fitopatógenos (Soler, 1997; Eger, 2000). Diversos estudios han demostrado que 1,3 Dicloropropeno es muy efectivo como nematicida, sin embargo su eficacia como fungicida es relativamente pobre pudiendo ser compensada por la adición de Cloropicrina un potente fungicida (Dunn *et al.*, 2006; Gilreath y Santos, 2008; MBTOC, 2007; Minuto *et al.*, 2006; Noling y Becker, 1994; Qiao *et al.*, 2010, 2011). En consecuencia 1,3 Dicloropropeno y cloropicrina suelen aplicarse juntos.

Los resultados de estudios realizados sobre la aplicación de 1,3 Dicloropropeno + Cloropicrina han confirmado que la aplicación mixta de ambos compuestos químicos es una de las alternativas más efectivas para el control de las enfermedades del suelo, nematodos formadores de nódulos en la raíz y malas hierbas (Cebolla *et al.*, 2002; Chellemi y Mirusso, 2004; Gilreath *et al.*, 2004a, 2004b; Ji *et al.*, 2013; Minuto *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2006, 2007). Sin embargo la alta presión de vapor de ambos fumigantes los hace volátiles, pudiendo ser emitidos desde el suelo y de este modo afectar negativamente a la calidad del aire y la salud humana. Según Tello y Bello (2002) se puede concluir que de las alternativas químicas al BM la mezcla de 1,3-D con cloropicrina (35%) a la dosis de 40cc/m² tiene una elevada eficacia pero esta alternativa no puede considerarse debido a sus efectos cancerígenos y altamente contaminantes.

Situación legislativa

La utilización de productos fitosanitarios es uno de los medios para combatir organismos nocivos y malas hierbas que, constantemente, afectan al rendimiento de la producción de cultivos. Dichos productos fitosanitarios, no solo tienen repercusiones favorables en la producción vegetal, su utilización puede implicar riesgos para el hombre y el medio ambiente. De esta manera, se ha observado que la desinfección de suelos con productos químicos puede presentar toxicidad en el

suelo procedente de los productos utilizados para el tratamiento del suelo. El uso de estas sustancias activas debe limitarse (Cenis, 1991) y, para ciertas materias incluso, prohibirse. Con objeto de regular su uso y aplicación, las diferentes entidades gubernamentales de la Unión Europea desarrollan, con frecuencia, modificaciones en las normativas referentes al uso de fitosanitarios y, en lo que concierne a este trabajo, los fumigantes del suelo.

Actualmente, la liberación constante de contaminantes orgánicos persistentes en el ambiente genera un rechazo en una sociedad, cada vez más, concienciada por los impactos ambientales ocasionados por las prácticas del ser humano. Las sustancias químicas traspasan las fronteras internacionales lejos de su lugar de origen y permanecen en el medio ambiente, bioacumulándose a través de la cadena trófica, suponiendo un riesgo para la salud humana y medio ambiente. Por consiguiente, deben tomarse medidas adicionales para eliminar los riesgos derivados del uso de estas sustancias químicas en el marco legal.

En consecuencia, la UE publicó la Directiva **91/414/CEE** considerando que el uso de ciertas materias activas puede entrañar riesgos y peligros para las personas, los animales y el medio ambiente, en particular si se comercializan sin haber sido examinados y autorizados oficialmente y se emplean de manera incorrecta. Por este motivo, las materias activas son objeto de control continuo con la finalidad de asegurar la no emisión de sustancias que pudieran ser nocivas para el medio ambiente y los seres vivos. En lo referente a los desinfectantes químicos del suelo, se presenta a continuación una lista de las principales sustancias recogidas como fumigantes del suelo y su situación legislativa.

Tabla 2. Lista Comunitaria de la situación actual de sustancias activas de uso desinfectante del suelo.

Materia Activa	Función	Inclusión	Caducidad	Condiciones
Metam sodio	Fumigante	1/07/2012	30/06/2022	Uso exclusivo en pre-plantación (1 vez por cada 3 años en el mismo campo)
1,3-Dicloropropeno	Fumigante			Presentado de nuevo para su inclusión en la lista comunitaria.
Cloropicrina	Fumigante		23/06/2013	
Dazomet	Fumigante	1/06/2011	31/05/2021	
Dioxido de carbono	Fumigante	1/09/2009	31/08/2009	

Datos publicados por el ministerio de medio ambiente y medio rural y marino 02/09/2013.

En diciembre de 2013, el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, ha autorizado de manera excepcional por un plazo de 120 días la comercialización de los productos formulados a base de 1,3 Dicloropropeno para la desinfección del suelo en viveros de fresas. Esta autorización tiene efecto a partir del 11 de Diciembre de 2013 hasta el 10 de Abril de 2014.

2.2.2. Desinfecciones No Químicas del Suelo

El incremento de la presión social y legislativa para restringir el uso de fumigantes químicos ha creado un interés en evaluar el aprovechamiento de alternativas para el manejo de enfermedades del suelo destacando, entre estas, las técnicas de desinfección no químicas (Chellemi *et al.*, 1994). Las desinfecciones no químicas basadas en la utilización de calor como esterilizante y materia orgánica, se consolidan como alternativas viables para los agricultores.

La desinfección no química del suelo se fundamenta en criterios ecológicos, constituyendo un método biológico de desinfección de suelos. Los métodos de biodesinfección se basan en la incorporación de materia orgánica al suelo con o sin la posterior colocación de un plástico, que aumenta la temperatura del suelo, biofumigación y biosolarización, respectivamente. El fundamento de la biodesinfección se basa en la inducción de procesos y en la producción de sustancias volátiles que actúan como fumigantes (biofumigación) para el manejo de organismos patógenos de origen edáfico de plantas, mediante la descomposición de enmiendas orgánicas como estiércoles, abonos verdes o residuos agroindustriales (Kirkegaard *et al.*, 1993a,b, 1994,2008; Bello, 1998; Lazarovitis *et al.*, 2001, 2005; Díez Rojo, 2006, 2008a). Este método posee un efecto selectivo sobre la actividad microbiana, disminuyendo las poblaciones de fitopatógenos, favoreciendo a los saprófagos y a los organismos antagonistas. La susceptibilidad de los patógenos a los compuestos volátiles que se desprenden durante la descomposición de la materia orgánica aumenta al elevarse la temperatura del suelo, por lo que su eficacia se incrementa cuando se combina con la solarización (biosolarización).

La biodesinfección de suelos es considerada una práctica cultural que puede ser integrada en los sistemas agrarios para la gestión de restos agroindustriales, ya que incrementa a su vez la fertilidad del suelo, así como mejora las propiedades físicas, químicas, o biológicas y reduce el consumo de agua y fertilizantes. Además, reduce costes de producción sin causar impacto en el medioambiente, dando un valor añadido a la materia orgánica, teniendo en cuenta que la naturaleza de la misma es diversa (Castro Lizaso *et al.*, 2011).

BIOFUMIGACIÓN

El concepto “Biological Fumigation” fue acuñado por Kirkegaard *et al.*, (1993a), empleando el término biofumigación en Kirkegaard *et al.*, (1993b) y Matthiessen y Kirkegaard (1993), apareciendo, por primera vez, en una revista internacional en Angus *et al.*, (1994). Kirkegaard y Sarwar (1998) definen la biofumigación como: “the suppression of soil borne pest and pathogen by *Brassica* rotation or green manure crops” (Angus *et al.*, 1994; Kirkegaard *et al.*, (1993a,b). En estos trabajos, los efectos supresivos de microorganismos patógenos se asocian a la liberación de isotiocianatos generados durante la hidrólisis de los glucosinolatos, mediante la acción de la enzima mirosinasa, presente en las Brassicas (Lazzeri y Manici 2000, Lazzari *et al.*, 2004).

Posteriormente, Bello *et al.*, (1999, 2001) y Tello y Bello (2002) amplían el término biofumigación, definiéndolo como “la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de plantas”. Además, afirman que su eficacia se incrementa cuando se incluyen en un sistema de producción de cultivos o forma parte de un sistema de producción integrada.

Según la metodología explicada por (Tello y Bello, 2002), los biofumigantes deben esparcirse de forma uniforme para que no se produzcan focos de patógenos en las zonas no tratadas. Además, debe ser incorporado de manera inmediata en el suelo y, tras un pase de rotovator, regar el terreno hasta obtener un suelo saturado. En el suelo, recientemente inundado, la tasa de consumo de oxígeno por parte de los microorganismos es más alta que la difusión y los microorganismos aerobios consumen todo el oxígeno. La ausencia de oxígeno en el suelo produce una reducción en su población obteniendo valores cercanos a cero. De esta manera, tiende a aumentar las poblaciones de microorganismos anaerobios que llevan a cabo la descomposición de la materia orgánica utilizando compuestos oxidados del suelo (nitratos, óxidos de manganeso, férricos, etc.) para su respiración. La cantidad de oxígeno va disminuyendo desde la superficie del agua hasta las capas más profundas del suelo. En la parte superior de un suelo cubierto por una lámina de agua encontramos una capa oxidada de suelo de más o menos 1 cm de espesor, donde la difusión del oxígeno es suficiente para ser consumido por la microbiota edáfica. Dentro de esta capa, la concentración de oxígeno en disolución no es constante, varía entre la saturación de la superficie hasta casi cero. De esta manera, Blok *et al.*, (2000) explican que, además de los efectos de los gases emitidos por la descomposición de la materia orgánica, se producen reacciones de oxido-reducción en el suelo, presentando efectos nocivos sobre los microorganismos tanto patógenos como no

patógenos. El resultado de estos procesos, conlleva a cambios en el pH del suelo; disminución del potencial redox y aumento de la conductividad eléctrica (Ponnamperuna 1976).

La técnica se ha ensayado con una amplia variedad de materias orgánicas ya que cualquier resto orgánico puede actuar como biofumigante, dependiendo de la eficacia de sus características, dosis y método de aplicación. La elección del material biofumigante es esencial para un buen resultado del proceso. En el caso de uso de estiércol, el de ovino-cuprino es el que presenta mejores efectos, seguido del equino y del vacuno (Martínez *et al.*, 2009). El empleo de restos vegetales como material biofumigante requiere de una labor de troceado, proceso que suele completarse con una fresadora a la vez que se mezcla con el suelo. La biofumigación se diferencia del uso de enmiendas orgánicas en las características de los materiales biofumigantes y en el método de aplicación. Los ensayos realizados por Bello *et al.*, (1999, 2001) presentan resultados de la aplicación de la biofumigación con enmiendas orgánicas en cultivos de cucurbitáceas, pimientos, zanahoria, tomate, otras hortalizas, fresón, platanera, cítricos, frutales, viñedos y flor cortada en diferentes ambientes de la región mediterránea, obteniendo una eficacia similar a los pesticidas convencionales.

En condiciones de laboratorio y de campo, la biofumigación ha mostrado estimular la actividad biológica de los suelos incrementando las poblaciones de antagonistas de patógenos como las bacterias *Pseudomonas fluorescens* o *Bacillus spp.* (Lazcano *et al.*, 2004). En función de estos resultados, existiría una relación entre la actividad biológica de los suelos y la supresión de la actividad patogénica. De este modo, Fernández *et al.*, (2000) analizan el valor de las enzimas del suelo para determinar la capacidad de los microorganismos en la supresión de los patógenos de plantas, señalando que los contenidos de ureasa y quitinasa están inversamente correlacionados con el número de nódulos de *M.arenaria*. Así mismo, afirman que la aplicación de compost incrementa las poblaciones de bacterias y la actividad enzimática (ureasa, quitinasa, proteasa, catalasa y la hidrólisis de diacetato de fluoresceína). Chavarría-Carvajal y Rodríguez-Kábana (1998) estudian el efecto de compuestos aromáticos utilizados en el control de nematodos sobre la actividad enzimática del suelo.

También se han diseñado experimentos de biofumigación, con residuos de Brassicas, estiércol de oveja y residuos de champiñón en un cultivo de zanahoria, bajo condiciones ambientales de climas mediterráneos, obteniéndose resultados satisfactorios en los tres materiales orgánicos utilizados, confirmando que las técnicas de biofumigación (Onta, 2000). El abono verde de Brassicas

se ha considerado supresor de organismos productores de plagas y enfermedades cuando se incorpora al suelo (Chan y Close 1987; Mojtahedi *et al.*, 1991). Este efecto se atribuye, por lo general, a compuestos biocidas como los glucosinolatos, que por hidrólisis dan lugar a sustancias como isotiocianatos, que se han considerado como los productos más tóxicos (Brown y Morra 1997; Rose *et al.*, 1997).

El proceso de biofumigación sobre el suelo tiene como resultado un incrementado en el número de nematodos saprófagos, mejora las características del suelo y la nutrición de la planta, además se producen una secuencia de cambios microbiológicos, con una proliferación de microorganismos inicial que depende de los recursos añadidos (Bello *et al.*, 2004). Los mecanismos involucrados en el control de patógenos pueden ser de diversa índole incluyendo la acción de los compuestos que resultan tóxicos (Shetty *et al.*, 2000; Tsao y Oster, 1981), la alteración de las propiedades del suelo que afectan la supervivencia de los organismos (Keinath, 1996), la estimulación de la actividad de los organismos de control biológico (Dutta e Isaac, 1979; Jordan *et al.*, 1972) así como la mejora e inducción de resistencias (Hoitink y Boehm, 1999).

La eficacia de la biofumigación es similar a la de los pesticidas convencionales, y aunque la técnica es diferente a la solarización, se pueden complementar incrementando su eficacia (Bello *et al.*, (2000). Esta técnica puede ser de gran interés en países en vías de desarrollo debido al bajo coste y facilidad de aplicación (MBTOC, 1997, 1998). De esta forma, esta técnica de biodesinfección de suelos se considera una alternativa no química al BM (MBOTC, 1997) que regula la presencia de patógenos del suelo a través de los procesos de degradación de la materia orgánica (Bello *et al.*, 1997a, 1997b). Los gases obtenidos son el resultado de la biodescomposición de esta materia orgánica mediante el efecto biomejorador de los organismos del suelo o de aquellos que se encuentran asociados a las enmiendas orgánicas sin conocerse efectos negativos sobre el ambiente y la salud (Bello *et al.*, 2000). Calderon *et al.*, (2000) señala que la biofumigación se encuentra entre las mejores alternativas al BM en cultivos de tomate y Brassica en Guatemala.

Para prolongar el efecto de la biofumigación se precisa de un manejo adecuado del sistema agrario, especialmente de la relación plantas-medio ambiente. Por lo que, incorporado a un sistema de manejo integrado, se prolonga su efecto a través del tiempo combinándolo con la rotación y barbecho de cosechas, el uso de variedades resistentes, prácticas culturales en general, agentes de control biológicos y baja dosis de químicos (Bello, 1994).

SOLARIZACIÓN

La desinfección del suelo mediante solarización se define como medida de control de patógenos del suelo de los vegetales y de la flora arvense, descrita por primera vez por Katan *et al.* (1976). El autor observó que al cubrir el suelo con láminas de plástico transparente, durante los meses más cálidos, se incrementó la temperatura del suelo debido a la captura de la radiación solar. Este incremento supuso una reducción de plantas afectadas por enfermedades causadas por organismos patógenos.

El suelo previamente humedecido es cubierto por una lámina de plástico transparente de polietileno de unos 0.03 mm de espesor durante períodos prolongados (≥ 4 semanas), hasta un nivel que elimina a las poblaciones de patógenos de los vegetales del suelo (Katan *et al.*, 1983). El efecto de la técnica sugiere poseer un control biológico y térmico, consiguiéndose alcanzar temperaturas letales en las capas altas del suelo para los patógenos de plantas.

El procedimiento utilizado en la solarización permite un mejor aprovechamiento de la energía solar, así como la disminución de pérdidas por la evaporación del agua del suelo gracias a la colocación de un plástico. De esta manera, la solarización es un proceso natural de desinfección hidrotermal del suelo que se produce por el calentamiento del suelo húmedo, facilitado por el recubrimiento del mismo con una envoltura plástica que retiene la radiación solar, hasta niveles letales para los patógenos y parásitos telúricos (36-50°C) (Katan, 1981). La eficacia de este método de desinfección depende de la profundidad, deja de ser efectivo a partir de 30cm (Lacasa *et al.* 2004).

Tras aplicar la técnica de solarización, se observa el control de numerosos patógenos del suelo, mayoritariamente fúngicos (Mansoori y Jaliani, 1996; Martyn, 1986), y bacterianos (Khlaif, 2003; Raio *et al.*, 1997) junto con reducciones en la densidad de población de nemátodos (Ashworth y Gaona, 1982; Katan, 1980; 1981; Stapleton *et al.*, 1983). Su modo de acción se relaciona con el efecto directo que tiene el aumento de la temperatura sobre los patógenos y el estímulo ejercido sobre microorganismos benéficos (MBTOC, 1995).

Por otro lado, la aplicación de esta práctica ha manifestado un incremento en el crecimiento de la planta, así se recogen en diversos trabajos realizados en campo y en invernadero (Duniway, 2002; Gamliel y Katan, 1989; Gamliel y Katan, 1992; Greenberger *et al.*, 1987; Kloepper *et al.*, 1980a, 1980b; Stapleton y DeVay, 1982b, 1984; Suslow y Schroth, 1982). Los mecanismos que

podrían ser responsables de este fenómeno son muy variables, incluyendo la liberación de minerales en el suelo, la estimulación de microorganismos beneficiosos y el control de patógenos (Katan, 1981). La mejora del desarrollo de la planta se atribuye a la alteración de varios factores físicos, químicos y bióticos debido a que se producen importantes cambios en la actividad microbiana durante y tras la solarización, indicando que los propios microorganismos del suelo juegan un papel crucial en el fenómeno del incremento del crecimiento (Gamliel y Katan, 1993).

Los suelos solarizados se vuelven supresivos a patógenos, es decir, en ellos, las enfermedades causadas por determinados patógenos no se manifiestan o lo hacen mínimamente, a pesar de que dichos agentes se encuentren de manera natural o hayan sido introducidos artificialmente (Dianez, 2005). En cambio, otros microorganismos como las bacterias *Pseudomonas* aumentan tras solarizar, colonizando la rizosfera y las propias raíces.

La solarización es un método que por sí solo no siempre es eficaz, especialmente en el control de organismos móviles como pueden ser los nematodos que por la acción del calor, estos organismos, se desplazan en profundidad, siendo incorporados de nuevo con las labores a la superficie del suelo (Escuer *et al.* 2004). En los casos donde la solarización ha sido eficaz se trata, por lo general, de suelos con alto contenido en materia orgánica (solarización más biofumigación), o de suelo poco profundos.

Con carácter general la solarización mejorada con técnicas complementarias (plásticos, fumigantes o plaguicidas químicos, antagonistas biológicos, enmiendas orgánicas, prácticas de cultivo adecuadas, etc.) puede ser una alternativa potencial a las fumigaciones con productos químicos, no así la solarización utilizada de forma aislada (Barres *et al.* 2006). Se ha observado que esta técnica resulta también eficaz cuando se combina con bajas dosis de fumigantes comerciales, reduciendo el impacto ambiental de estos pesticidas, resultando una buena alternativa en los cultivos de fresón en Huelva y zanahoria en Cádiz. La combinación de la solarización con fumigantes como el metam sodio, a dosis muy reducidas ($100 \text{ cc}\cdot\text{m}^{-2}$), es una práctica bastante frecuente en España, obteniendo resultados equiparables a los del BM.

BIOFUMIGACION CON SOLARIZACIÓN (BIOSOLARIZACIÓN)

El calentamiento del suelo por la colocación de un plástico, ha demostrado tener efectos variables en el control de enfermedades. Las carencias de algunos tratamientos de desinfección de

suelo podrían compensarse mediante la combinación de distintas técnicas (Katan 1981, 1983). En caso de situaciones adversas como condiciones medioambientales desfavorables, presencia de organismos patógenos termoresistentes o que se distribuyen en el suelo a gran profundidad, se aconseja combinar la solarización con otras técnicas compatibles (Stapleton, 2000).

El aporte de enmiendas orgánicas al suelo y posterior acolchado de plástico (solarización) incrementa la efectividad contra patógenos y reduce la cantidad de materia orgánica aplicada por hectárea (Bello *et al.*, 1998, Gamliel y Stapleton., 1993). De esta manera, surge la posibilidad de combinar la solarización con el aporte de enmiendas orgánicas, principalmente materiales con actividad biofumigante (biosolarización). Entre los beneficios de combinar ambas técnicas nos encontramos con la reducción de las temperaturas necesarias para el control de las poblaciones de patógenos, pudiendo aplicarse en aquellas zonas donde quedaba restringido su uso debido a condiciones ambientales adversas (Keinath, 1996), del mismo modo, se minimizan los tiempos de la aplicación de la desinfección.

Gamliel y Stapleton (1993) valoraron el efecto de los compuestos volátiles sobre los hongos patógenos del suelo *Phytium ultimum* y *Sclerotium rolfsii* usando restos de coliflor. Estos últimos autores justifican la combinación de técnicas indicando que la solarización es pasiva y dependiente de las condiciones meteorológicas, de modo que su integración con otros métodos de control físico, químico y biológico mejoran la eficacia en el control de patógenos.

El tratamiento de solarización con biofumigación ve aumentado su poder biocida con la repetición del tratamiento en el tiempo (Yélamos *et al.*, 2002). Debe considerarse que la repetición de la desinfección y la adición continua de materia orgánica podría llevar asociados problemas de contaminación por metales pesados y lixiviación de nitratos así como

En condiciones de campo, la combinación de ambas técnicas ha mostrado inducir un largo periodo de latencia en la expresión de nematodos, justo después de aplicar el tratamiento (Pattinson *et al.*, 2006; Stapleton y De Vay, 1983). La contribución de las enmiendas orgánicas a la supresión de nematodos ha sido descrita en numerosos estudios (Akhtar y Malik, 2000; Pandey, 2005; Rodríguez-Kábana *et al.*, 1987) derivada principalmente de la actividad microbiológica antagonista.

Blok *et al.*, (1998) estudian en laboratorio el efecto sobre el control de *Fusarium oxisporum* f. sp. *asparagi* de cinco materiales vegetales diferentes: *Lolium perenne*, *Brassica oleracea* convar *oleracea* var *gemmaifera*, restos de cultivos, frutales y residuos de jardín compostados, paja de trigo (*Triticum aestivum*) y alfalfa (*Medicago sativa*). Los diferentes materiales fueron incubados en botellas de vidrio a 11 y 14 °C, encontrando que el consumo de oxígeno fue mayor a 24°C y, que después de 7 semanas, no se detecta el hongo en los tratamientos con alfalfa y Brassica. Posteriormente, se repitió el experimento en campo durante el verano del 1994 y 1995 utilizando solo *Brassica oleracea* y *Lolium perenne*, en parcelas experimentales cubiertas con plástico y sin plástico, estudiando su efecto sobre *F. oxisporum* f. sp. *asparagi*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae* a 15 cm de profundidad, en suelo franco arenoso. En 1995, se determinó el efecto después de 15 semanas encontrando una eficacia alta en el control de hongos del suelo cubiertos con plástico, no encontrando alto efecto en el control de *Globodera pallida*, aunque se observó reducción de poblaciones de *Pratylenchus penetrans* y *Meloidogyne dallax*. El control de estas poblaciones se atribuyó a las condiciones de anaerobiosis creadas al incrementar el metabolismo del suelo, con la incorporación de la materia orgánica durante el proceso de fermentación. Concluyen, que el efecto de control no se debe a las sustancias tóxicas volátiles desprendidas durante la descomposición, ya que no se obtienen control de hongos al incorporar brócoli sin plástico, reconocen que las sustancias volátiles se producen pero no permanecen en el suelo el tiempo suficiente para que actúen en el control de los patógenos, concluyendo que la incorporación de materia orgánica puede ser importante pero es inconsistente. Los mecanismos de control están relacionados con la reducción de oxígeno y la toxicidad de los productos químicos formados en condiciones de anaerobiosis. El bajo nivel de oxígeno no es suficiente por sí solo para el control de los patógenos, indicando que no es necesario que se produzcan glucosinolatos para el control. Las diferencias de un año a otro se deben a la cantidad de materia orgánica, existiendo el riesgo de que el suelo sea recolonizado rápidamente por los organismos patógenos. Por consiguiente, la eficacia depende de la cantidad de materia orgánica, tipo de cobertura y estado de nutrientes en el suelo (Blok *et al.*, 2000).

El modo de acción de la biosolarización es complejo. Además de la destrucción directa del inóculo debido al aumento de la temperatura del suelo (Juarez-Palacios *et al.*, 1991; Bowers *et al.*, 1990) y del aumento de compuestos orgánicos volátiles (Gamliel y Stapleton, 1993 a), se han propuesto otras hipótesis. Blok *et al.* (2000) atribuyen la eficacia de la biosolarización a las condiciones de anaerobiosis creadas al incrementar el metabolismo del suelo, con la incorporación de la materia orgánica, durante el proceso de fermentación, señalando que los mecanismos de

control están relacionados con la reducción de la cantidad de oxígeno y la toxicidad de los productos que se crean durante el proceso de anaerobiosis. Otra de las hipótesis, defiende que la incorporación de enmiendas modifica la composición de las comunidades microbianas, y como resultado, aumenta la competencia y/o el antagonismo entre los microorganismos del suelo (Hoitink y Boehm, 1999).

2.3. Enmiendas orgánicas empleadas en tratamientos de biodesinfección de suelos.

La incorporación de materia orgánica en el suelo, incluyendo estiércoles de origen animal, compost y abonos verdes, se ha venido realizando desde el inicio de la agricultura, principalmente para aportar nutrientes a las plantas, obteniéndose además efectos beneficiosos sobre los parámetros físicos, químicos y biológicos relacionados con el suelo (Hader *et al.*, 1992). En la actualidad, se están utilizando compuestos de origen orgánico para manejar los patógenos de vegetales de origen edáfico como bacterias, hongos, virus, nemátodos y también flora arvense (Bello *et al.*, 2003; Diáñez *et al.*, 2003, López-Martínez *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2007, Zanón, 2009). En este sentido, se ha observado en numerosos trabajos que la materia orgánica reduce la incidencia de enfermedades causadas por un amplio rango de patógenos y plagas de plantas incluyendo bacterias, hongos y nemátodos (Abiwi y Widner, 2000; Conn y Lazarovits, 2000; Cook, 1986; Gamliel *et al.*, 2000; Lazarovits *et al.*, 2001), centrándose estos autores en aquellas enmienda con alto contenido en nitrógeno, estiércoles y compost. Entre los principales problemas en el empleo de enmiendas orgánicas aparecen su falta de homogeneidad, la acumulación de compuestos contaminantes y de metales pesados.

La materia orgánica es una fuente de elementos fertilizantes, especialmente de N, que si bien se aporta en forma orgánica poco apropiada para una asimilación rápida y directa de los vegetales, gracias a los organismos asociados y a los presentes en el suelo se transforma en nitrógeno amoniacal primero y nítrico después, quedando en forma asimilable. La adición de esta materia orgánica se realiza en un avanzado estado de descomposición cuando es incorporado al sistema agrícola como fertilizante del suelo (Aguirre, 1963). Así mismo, uno de los principales factores influyentes en la efectividad de la supresión de una enfermedad causada por patógenos del suelo estará estrechamente ligado al rango de descomposición de la materia orgánica aplicada.

En cambio, la materia orgánica es aplicada en el estado de preparación del suelo, en pre-plantación. La descomposición de estos materiales es en gran parte dependiente de la actividad de la microflora y fauna del suelo, además de la diversidad biótica del suelo afectan a los procesos de descomposición (Bettiol *et al.*, 2002; Schloter *et al.*, 2003; Fagan *et al.*, 2006). Al mismo tiempo, la

introducción de materia orgánica altera las propiedades física y químicas del suelo, conllevando a una alteración biótica del suelo (Pérez-piqueres *et al.*, 2006; Escuadra y Amemiya, 2008). Las enmiendas orgánicas principalmente influyen en las comunidades microbiológicas, incluidos algunos hongos patógenos saprofitos debido a que ellos utilizan la aplicación de materiales como fuente de alimento (Beding *et al.*, 2004; Fang *et al.*, 2011).

Estos cambios en la microflora pueden influir en todo el ecosistema del suelo a través de la interacción trópica con la red nutritiva del suelo (Sheu, 2000). La aplicación de materia orgánica podría directa o indirecta cambiar la incidencia de una enfermedad causada por hongos patógenos habitantes del suelo. Las enmienda orgánicas directamente suprimen hongos del suelo como *Pythium*, *Rhizoctonia* y *Sclerotinia* (Pane *et al.*, 2011) y afectan a la susceptibilidad del cultivo a los hongos patógenos (Navrozidis *et al.*, 2007). Las enmiendas orgánicas indirectamente disminuyen enfermedades fúngicas mediante la alteración de la microflora del suelo y promueven microorganismos supresores tales como hongos micorrizas y *Pseudomonas* (Neeraj y Singh, 2011; Zaccardelli *et al.*, 2013). Esto sugiere que los cambios producidos en la estructura de la comunidad microbiológica quedan estrechamente ligados a la incidencia en la podredumbre de la raíz.

2.3.1. Restos de cosecha

En los últimos años son múltiples los trabajos dedicados al estudio del control de enfermedades transmitidas por el suelo con el manejo adecuado de restos de cultivos (Bailey y Lazarovits, 2003). Estos residuos considerados como desperdicios sin ningún valor y que son catalogados como fuente de contaminación pueden usarse como materiales biofumigantes (Piedra Buena *et al.*, 2007).

Mediante su incorporación al suelo, se aprovechan los metabolitos secundarios producidos en el interior de los tejidos vegetales y que se liberan durante su proceso de descomposición (Gamliel *et al.*, 2000). Usando los residuos de cosecha como biofumigantes, se liberan, principalmente, aldehídos e isotiocianatos, ambos con actividad biocida (Abawi y Widmer, 2000; García-Álvarez *et al.*, 2004a).

Regalado *et al.* (2006) aportan información sobre la incorporación de restos de cosecha de pimiento, calabaza y tomate indicando que la utilización de restos se considerará una alternativa viable siempre que se disponga de la cantidad adecuada de biomasa. Como resultado sorprende que los residuos que mejor funcionaron contra nematodos formadores de nódulos del género *Meloydogyne* fueron los de tomate. Del mismo modo, Piedra Buena *et al.* (2006, 2007) emplean contra estos nematodos la combinación de técnicas aprovechando los restos de pimiento mientras

que Vilaseca (2007) estudia el efecto biofumigante de restos de tomate en el control de los virus ToMV y PepMV así como del hongo *Ospidium brassicae*.

BRASSICAS

Los productos de plantas bioactivos, incluyendo los residuos de plantas de la familia *Brassicaceae*, introducidos como cultivos de cobertura o enmiendas orgánicas, han adquirido interés para su uso como medida de control de enfermedades del suelo. Los miembros de plantas pertenecientes a la familia de *Brassicaceae* contienen compuestos conocidos como glucosinolatos (Kjaer, 1976) que son hidrolizados por la acción de la enzima mirosinasa dando lugar a isotiocianatos. Los glucosinolatos son inactivos contra microorganismos, pero los productos de hidrólisis son biocidas muy eficaces contra nematodos, hongos, bacterias, insectos y la germinación de semillas (Heaney Fenwick y Mullin, 1983; Brown y Morra, 1997; Smolinska *et al.*, 1997). Los resultados de la hidrólisis dependen de las condiciones ambientales (Rosa *et al.*, 1997).

En la bibliografía actual, numerosos son los estudios sobre biodesinfección de suelo con diferentes especies de Brassicas como enmienda orgánica aportada al suelo. El estiércol verde de brasicas tiene un buen efecto biocida por la producción de glucosinolatos (Brown y Morra, 1997) aunque no siempre resultan eficaces, Coelho *et al.* (1999) no obtuvieron un aumento de la eficacia de la solarización con la aplicación de col en el control de dos especies de *Phytophthora*. Stapleton y Bañuelos (2009), describen las brasicas como posibles enmiendas de suelo por su poder de liberación de isotiocianatos durante la descomposición de la materia orgánica. Este método parece ser efectivo como desinfectante de suelo al iniciar la solarización en noviembre (Martínez *et al.* 2010). Los pellets de brasicas (subproductos del proceso de extracción de los aceites de las semillas) han mostrado eficacia en el control de los patógenos del suelo (Lazzeri *et al.* 2004).

2.3.2. Residuos ganaderos

La mayoría de los efectos beneficiosos de la biofumigación han sido obtenidos empleando como biofumigantes estiércoles de cabra, oveja y vaca y residuos de arroz, setas, olivares, brasicas y jardines (Bello, 2004). Las enmiendas orgánicas, tales como el compost, se promueven normalmente para su uso en sistemas de producción agrícola para diferentes formas de manejo del suelo, incluyendo el control de enfermedades originadas por especies de *Pythium* (Mandelbaum y Hadar, 1990; McKellar y Nelson, 2003; Scheuerell *et al.*, 2005).

2.3.3. Residuos agroindustriales

Los procesos llevados a cabo sobre el uso y transformación de los residuos agrícolas y agroindustriales podrían contribuir al desarrollo de productos biofumigantes. Un ejemplo de ello podría observarse en desperdicios procedentes de la industria de zumo de naranja así como los subproductos de la producción de tomate, pimiento, fresa o calabacín que mostraron tener un control efectivo contra nematodos en condiciones de laboratorio (Piedra Buena *et al.*, 2006, 2007) y protección contra el marchitamiento por bacteria (Zanón *et al.*, 2011). Así mismo, otros subproductos como los derivados de la remolacha azucarera, caña de azúcar o las vinazas han sido citados al tener efectos inhibitorios en hongos patógenos de suelo cultivados *in vitro*, siendo las vinazas los subproductos los que presentaban efectos notables (Santos *et al.*, 2008).

2.4. Microorganismos de los suelos cultivados

La importancia de los microorganismos en ambientes naturales deriva de su cantidad, diversidad y, sobre todo, de su gran espectro de actividades, que en la mayoría de los casos repercuten en los seres superiores con los que comparte un determinado hábitat. Concretamente, en la fracción de suelo, los microorganismos son los componentes más importantes, ya que desarrollan una amplia gama de acciones que inciden en el desarrollo y nutrición vegetal. Los microorganismos del suelo y sus procesos asociados, están íntegramente involucrados en funciones determinantes de los ecosistemas terrestres (Ogunseitan, 2005). Muchas de estas funciones tienen una importancia directa en la producción agrícola y la sostenibilidad (ciclos químicos de nutrientes tales como C, N y P). Ciertamente, es sabido que las bacterias y hongos del suelo desempeñan un papel fundamental en diversos ciclos bioquímicos (Molin y Molin, 1997; Trevors, 1998; Wall y Virginia, 1999).

La microflora del suelo está compuesta por bacterias, algas, protozoos, hongos, actinomicetos y virus. Entre las funciones más importantes que cumplen asociadamente en los procesos encontramos;

- i. suministro directo de nutrientes como la fijación de nitrógeno
- ii. transformación de compuestos orgánicos que la planta no puede tomar a formas inorgánicas que si pueden ser asimiladas
- iii. solubilización de compuestos inorgánicos para facilitar su absorción como el fosfato tricálcico a fosfato monocálcico
- iv. cambios químicos en compuestos inorgánicos debido a procesos de oxidación y reducción como la oxidación de azufre mineral a sulfato

- v. aumento del desarrollo radicular en la planta que permite una mejor asimilación de nutrientes
- vi. reacciones antagonistas
- vii. parasitismo
- viii. control de patógenos
- ix. mejorar las propiedades físicas del suelo.

De este modo, los microorganismos también influyen sobre los ecosistemas del suelo contribuyendo a la nutrición de las plantas (George, 1995; Timonen, 1996), la sanidad vegetal (Srivastava, 1996; Fillion, 1999; Smith y Goodman, 1999), la estructura del suelo (Wright y Upadhyaya, 1998) y la fertilidad del suelo (Yao, 2000; o'Donnell, 2001).

En suelos no cultivados o con escasez de cubierta vegetal, existe una diversidad microbiológica baja, impidiendo una sucesión de los mismos durante la descomposición de los escasos residuos vegetales (Flanagan, 1981). La introducción de plantas al sistema, supone un cambio drástico entre las poblaciones telúricas, al ser las plantas las principales suministradoras de sustratos energéticos al suelo, de los que los microorganismos se aprovechan cuando se encuentran en la zona próxima a la raíz y proliferan en ella (Barea y Olivares, 1998). De manera que, la fracción microbiológica del suelo (hongos, bacterias, alga, protozoos y actinomicetos, en general) determinará el rendimiento de la producción del cultivo que el suelo sustente, demostrando la importancia de la microbiota edáfica en el mantenimiento de la fertilidad del suelo.

El estudio de la diversidad de microorganismos en suelos ha adquirido importancia debido a que explica el éxito de cultivos agrícolas en forma orgánica y sustentable, así como el manejo de ciertas enfermedades de plantas causadas por hongos que habitan en el suelo (Mäder et al., 2002; Mazzola, 2004). Sin embargo, los microorganismos del suelo pueden tener una acción benéfica o perjudicial sobre la planta cultivada, dependiendo de su actividad biológica.

En este último sentido, numerosos han sido los trabajos realizados sobre microorganismos causantes de enfermedad debido a las grandes pérdidas ocasionadas sobre el cultivo, centrándose en la densidad de inóculo del patógeno en el suelo, así como de sus variaciones en el medio edáfico. La importancia de la densidad de inóculo de un patógeno en el suelo deriva de la manifestación de que a mayor densidad de inóculo mayor severidad de la enfermedad que ocasiona. Sin embargo, Bouhot (1980) suscribe que la presencia de inóculo en el suelo no es suficiente, pues debe ser tenida en cuenta las capacidades infecciosas y saprofitas propias del inóculo, los efectos del ambiente-suelo, así como, la sensibilidad de la planta y la predisposición del cultivo ligada al ambiente (Louvet y Alabouvette, 1988).

Por lo tanto, la capacidad saprofítica de un patógeno puede influir decisivamente en su habilidad para parasitar, además de influir aspectos como el efecto de las condiciones ambientales, la capacidad de acogida de un suelo para admitir como habitante a un extraño o, las propiedades intrínsecas del mismo microorganismo cuando se ha alimentado de un tipo u otro de materia orgánica.

Las afirmaciones anteriormente expuestas esclarecen la importancia del suelo, considerado como un ente vivo sede de interacciones complejas y desconocidas de las poblaciones microbianas que lo habitan (Tello, 1988). Para Bello (1988) se hace necesario poder identificar los componentes fundamentales del ecosistema suelo, especialmente aquellos que tienen una función reguladora y cuya destrucción puede producir procesos de degradación en el suelo.

2.4.1. Factores que afectan a la comunidad microbiana en suelos cultivados

El comportamiento de la microbiota telúrica sometida a la actividad agrícola, se ve influenciada por diversos factores, donde cualquier modificación que se produzca en una propiedad del sistema suelo-planta tendrá repercusiones significativas en los microorganismos que dicho suelo sustente.

La composición de la microbiota edáfica reflejará, de alguna forma, las interacciones microbianas existentes entre los mismos. Pero, además, esta composición estará condicionada por los factores físico-químicos del medio edáfico, por la vegetación presente y por las condiciones climáticas. A continuación, se desarrolla de manera más específica algunos de los factores que podrían condicionar la presencia de determinados microorganismos en el suelo.

INFLUENCIAS EN LA COMPOSICIÓN MICROBIOLÓGICA DEL SUELO DEBIDA A LAS INTERACCIONES ENTRE LOS MICROORGANISMOS DEL SUELO

En el suelo, las comunidades microbianas, al compartir un determinado hábitat interactúan entre sí, pudiendo ser estas interacciones de varias categorías entre ellas comensalismo, proto cooperación, mutualismo, neutralismo, competición, amensalismo, predación y parasitismo. La competición, ha sido la más estudiada en los microorganismos del suelo, y más concretamente, el fenómeno de la fungistasis, entendiéndose este como una consecuencia de la competición por el alimento y por el espacio (Tello, 1988; Lockwood, 1977). La fungistasis posibilita la perpetuidad en el tiempo de la microbiota telúrica entendiéndose como una consecuencia de la competición por el alimento y el espacio. La fungistasis evita el desgaste que ocurriría si la

germinación de esporas tuviera lugar en ausencia de sustrato explotable (Garret, 1970). Es decir, si un suelo presenta un conjunto de elementos nutritivos escasos para el desarrollo y crecimiento de todas las poblaciones que en él habita, se produce una inactividad de los microorganismos.

El suelo como medio posee una capacidad de acogida, entendida esta como la habilidad para admitir entre sus habitantes a un extraño. Louvet y Alabouvette (1988) explican que un suelo infectado por microorganismos patógenos no es solamente una fuente de infección para el cultivo, sino que es, igualmente, un medio de protección de las plantas contra otros microorganismos patógenos. Añaden, que, cada suelo tiene un nivel de receptividad más o menos grande a una enfermedad concreta, es decir, que tiene una capacidad variable para permitir el desarrollo de una enfermedad. El medio telúrico es capaz de modular la expresión de las micosis en él originadas, hasta el punto de impedir su manifestación, pese a estar presente el inóculo patógeno, el hospedador sensible y el ambiente propicio como lo patentan los denominados “suelos resistentes” o suelos supresivos (Rouxel, 1978; Alabouvette, 1983; Lemanceau *et al.*, 1988).

Un ejemplo clásico de supresividad natural en los suelos es la supresividad frente a marchitamientos vasculares producidos por *Fusarium oxysporum*. Este fenómeno fue por primera vez reconocido en el siglo XIX en cultivos de algodón (Atkinson, 1892; Weller *et al.*, 2002) y fue posteriormente descrito para otros muchos suelos y cultivos en todo el mundo (Smith y Snyder, 1971; Toussoun, 1975; Scher y Baker, 1980; Alabouvette, 1986; Hopkins *et al.*, 1987; Sneh *et al.*, 1987; Peng *et al.*, 1999; Domínguez *et al.*, 2002). La supresividad a marchiteces vasculares producidas por *F. oxysporum* en estos suelos limita o reduce la severidad de la enfermedad en muchas especies vegetales (Cook y Baker, 1983; Alabouvette, 1990). Esta supresividad es generalmente de origen natural, aunque puede ser en algunos casos inducida mediante prácticas culturales como el monocultivo de melón y de sandía (Sneh *et al.*, 1984; Larkin *et al.*, 1993). La naturaleza de la supresividad en estos suelos es microbiológica, ya que la supresividad en los mismos se pierde cuando son sometidos a tratamientos con calor húmedo, bromuro de metilo o radiaciones gamma (Alabouvette *et al.*, 1977; Scher y Baker, 1980; Alabouvette, 1986) y se restablece cuando se mezcla un suelo conductivo previamente esterilizado con calor, con una pequeña parte del suelo original supresivo (Scher y Baker, 1980; Alabouvette, 1986).

Entre los microorganismos descritos como responsables de la supresividad a las fusariosis vasculares se encuentran tanto bacterias como hongos, siendo los mecanismos fundamentalmente la competición por el hierro y las fuentes de carbono en la rizosfera. Bacterias como *Alcaligenes sp.* (Widnyana *et al.*, 2013) o *Pseudomonas spp.* (Kloepper *et al.*, 1980; Scher y Baker, 1982; Lemanceau y Alabouvette, 1993) inhiben a *Fusarium oxysporum* mediante competición por el hierro a través de la producción de sideróforos y hongos como *Trichoderma harzianum* (Sivan y Chet, 1989) o cepas de

Fusarium oxysporum no patógenas compiten por las fuentes de carbono (Rouxel *et al.*, 1979; Alabouvette *et al.*, 1984; Alabouvette, 1986; Larkin *et al.*, 1996; Larkin y Fravel 1998, 1999).

INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS SOBRE LOS MICROORGANISMOS EN SUELOS CULTIVADOS.

Las relaciones entre los factores físico-químicos y las poblaciones de la microbiota telúrica están poco definidas, parece que, un conjunto de las condiciones determinadas por estos factores limitan la composición de los microorganismos en el suelo. El tipo de suelo es considerado un factor primario en la determinación de la composición y/o función de las especies fúngicas (Bossio *et al.*, 1998; Buyer *et al.*, 1999; Gelsomino *et al.*, 1999; Girvan *et al.*, 2003; Rasche *et al.*, 2006). La variación en los factores físico-químicos y medioambientales entre tipos de suelo interactuará de manera compleja influenciando la diversidad y función de la microbiota edáfica. Dentro de los parámetros físico-químicos, el pH resulta ser un factor fuertemente asociado a las funciones catabólicas del suelo y a la estructura de la comunidad biológica, (escribir su asociación a la comunidad bacteriana). Los cambios de pH en la rizosfera también afectan a las poblaciones microbianas, en algunas ocasiones basta con inducir cambios en la acidez del medio a través del manejo mecánico, químico, físico o el uso de la tierra para favorecer algunos grupos microbianos, que pueden resultar benéfico o dañino a la plantación. Existen una gama de compuestos que inducen cambios de pH en la raíz, entre ellos los agroquímicos utilizados comúnmente en fincas agrícolas, además de compuestos químicos naturales como los ácidos orgánicos que forman parte del *Ciclo de Krebs*, estos son el ácido cítrico, ácido acético y málico (Alexander, 1980).

La textura del suelo también está correlacionada con la composición de la comunidad bacteriana (Girvan *et al.*, 2003; Johnson *et al.*, 2003). Ambos factores, pH y textura del suelo tienen una mayor influencia en la composición de la comunidad bacteriana.

Por otra parte, como señala Lemanceau (1988), numerosos autores han demostrado que la humedad y la aireación del suelo, en particular la presión parcial de oxígeno influyen en el desarrollo de las poblaciones fúngicas y microbianas.

INFLUENCIA DE LAS PRÁCTICAS CULTURALES SOBRE LOS MICROORGANISMOS EN SUELOS CULTIVADOS

Las prácticas culturales, incluyendo la rotación de cultivos y las aplicaciones de fertilizantes y desinfectantes, influyen en la naturaleza y composición de las especies fúngicas (Subba Rao, 1999).

En la actualidad, el incremento de la necesidad de abastecer la gran demanda de los productos alimenticios, ha propiciado el aumento de la agricultura intensiva, caracterizándose por la tendencia a realizar una agricultura basada en el monocultivo. El crecimiento prolongado, y a veces, ininterrumpido de un cultivo en un mismo suelo presenta deficiencias en la producción. Este hecho ha sido, normalmente, asociado al fenómeno conocido como fatiga o cansancio del suelo (Tello *et al.*, 2011), como fue el caso de cultivos de remolacha azucarera (Richard-Molard, 1983) o el trigo (Bodet, 1983) ambos descritos en Francia, o en el caso del cultivo del fresón (Roudeillac, 1983) y en las plantaciones de espárragos en Suiza (Gindrat *et al.*, 1983).

Básicamente, fatiga o cansancio del suelo se traduce en una reducción del desarrollo de las plantas y una disminución de las producciones obtenidas. Así mismo, Bouhot (1983) la define como la perturbación de la fertilidad del suelo debida a causas múltiples que pueden ser acumulativas, sucesivas o simultáneas, mientras que, Cebolla y Maroto (2004) afirman que se manifiesta por un crecimiento deficiente y anómalo de la planta, así como una pérdida de producción en sistemas de cultivo. Las causas podrían deberse a un desequilibrio microbiológico en el suelo conduciendo al establecimiento de microorganismos perjudiciales en detrimento de los beneficiosos (Cebolla y Maroto, 2004). Además de otros factores con efecto acumulativo podrían ser responsables del síndrome de la enfermedad. En el cultivo del melocotón, una fitotóxina procedente de la descomposición de los residuos del cultivo anterior provocaba la enfermedad. El glucósido contenido en la corteza de las raíces del árbol se convierte en componentes tóxicos como benzaldehído y cianamida de hidrógeno mediante la intervención de microorganismos del suelo (Subba Rao, 1999). La manifestación de este fenómeno en cultivos intensivos es atribuida a la carencia de una rotación de cultivo (Zapater, 1989), asociada a la presencia de determinados microorganismos causantes de la misma.

Además, numerosos trabajos han hecho visible la importancia de las aportaciones de materia orgánica sobre la microflora telúrica. La cantidad y disponibilidad de materia orgánica presente en el suelo tiene una relación directa con el número de hongos que se encuentran en él (Subba Rao, 1999). Este autor refirió que las fluctuaciones estacionales en el número de hongos presentes en el suelo no son frecuentes en zonas no cultivadas, y que las prácticas culturales son las que influyen en la naturaleza y composición de las especies fúngicas. También indica que la cantidad de materia orgánica presente en el suelo tiene una relación directa con el número de hongos que se encuentran en el suelo ya que la mayoría de ellos poseen una nutrición heterótrofa.

2.4.2. Variación de la microbiota no patógena durante un ciclo de cultivo

Los trabajos que abordan el estudio de la variación en la composición microbiológica del suelo a lo largo del crecimiento vegetativo de la planta en cultivos hortícolas, aunque escasas, la mayoría vienen referidos a las poblaciones bacterianas. Tal es así, que algunos autores como Acero (1994) encontraron que la composición de las poblaciones de microorganismos de la rizosfera del aliso (*Alnus*) se alternaban entre las dominadas por *Bacillus spp.* en otoño-invierno y otras dominadas por *Pseudomonas spp.* en primavera-verano.

Sørensen (1997) estudió los cambios producidos en raíces maduras de suelos cultivados y advirtió que las sucesiones estacionales pueden observarse cuando la actividad microbiana varía con la temperatura, el contenido de agua, la nutrición y los exudados de la raíz.

Parkinson (1957), Jackson (1960) y Parkinson *et al.* (1963) afirmaban que tras el trasplante y durante las primeras semanas de desarrollo de la raíz en el suelo, puede aislarse de las proximidades de ésta un gran número de especies de hongos. Según los mismos autores, la colonización de la zona de actuación de las raíces por parte de los hongos no tiene lugar hasta que la raíz tiene unas semanas de edad. Una vez establecida una población, ésta se mantiene constante hasta el momento de la senescencia del sistema radical, de forma que la abundancia relativa de cada una de las especies resulta poco alterada.

Fue Peterson en 1961, quien estudió el efecto de la intensidad de la luz sobre el desarrollo de hongos sobre la superficie radical del trigo y la soja. No encontró ninguna influencia apreciable de este factor sobre los hongos pobladores del suelo a pesar de las diferencias que se encontraron en el desarrollo vegetativo de las plantas.

Tal y como señalan otros autores como Taylor y Parkinson (1964), pueden ser muy diversas las causas que motiven un cambio en la composición de la microbiota asociada a las raíces del cultivo.

EFFECTO DE LAS LABORES CULTURALES SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA EN SUELOS CULTIVADOS.

En referencia al laboreo, se ha comprobado que tras la roturación y volteo del suelo las poblaciones de actinomicetos, bacterias y hongos aumentan para posteriormente menguar progresivamente (Martínez *et al.*, 2009). Básicamente, algunas especies entran a formar parte del suelo como consecuencia del enterrado de restos vegetales. Con la incorporación de rastrojos de trigo, *Cladosporium spp.* entró a formar parte de la microbiota del suelo, sin embargo, se observó

que este progresivamente desaparece después de introducir los restos de cosecha, donde parece no poder sobrevivir. En contraposición, *F. oxysporum* y *Penicillium spp.*, no parecían guardar relación ninguna con la labor del arado (Martínez *et al.*, 2009).

EFFECTO DE LOS APORTES DE MATERIA ORGÁNICA SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA EN SUELOS CULTIVADOS.

La importancia de las aportaciones de materia orgánica sobre la microflora telúrica deriva de la necesidad de suministrar nutrientes al suelo que serán consumidos por la microbiota y las plantas que el terreno sustente. La cantidad y disponibilidad de materia orgánica presente en el suelo tiene una relación directa con el número de hongos que se encuentran en él (Subba Rao, 1999), ya que la mayoría de ellos tienen una nutrición heterótrofa. Las fluctuaciones estacionales en el número de hongos presentes en el suelo no son frecuentes en zonas no cultivadas, siendo las prácticas culturales las que influyen en la naturaleza y composición de las especies fúngicas (Van der Wal *et al.*, 2006).

Así mismo, el trabajo de Guillemat y Montegut (1956) realizado en la Estación Agrícola en Gingon (Francia), muestra que al abonar el suelo, los hongos se modificaban en dos sentidos: por un lado entraban a formar parte del suelo nuevos organismos y por otro, la adición de nutrientes (abono) favorecía el desarrollo de nuevas especies y de las ya existentes. Algunas de estas especies estaban ligadas a las partículas de abono, cuando estas se desintegraban desaparecían aquellas. Otras nuevas parecían capaces de instalarse por sí mismas.

EFFECTOS DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL MEDIO EDÁFICO

En relación a la influencia de la luminosidad sobre la colonización de hongos no patógenos, Harley y Waid (1955) llegaron a la conclusión de que las condiciones en que se encuentra la planta constituyen un factor de primera importancia en la determinación de la naturaleza de la población cercana al sistema radicular, pero no sabían con certeza hasta qué punto la interacción entre los microorganismos ejercía influencia sobre la composición de dicha población.

En cuanto a la influencia del pH del suelo para el desarrollo de una determinada población de microorganismos, Parkinson y Clarke (1961), observaron que *Fusarium* predominaba y se multiplicaba en mayor medida en suelos ácidos en todos los tipos de análisis realizados en medio selectivos. *Penicillium spp.* y *Trichoderma spp.* eran los colonizadores dominantes cuando el valor del

pH era mínimo (3,2). Según los mismos autores, *Fusarium* spp. parecía no estar influenciado solo por el pH, sino por la abundancia de inóculo disponible y la capacidad competitiva de las cepas.

2.4.3. Habitantes e invasores

La interacción de los microorganismos en el suelo, tal y como ha sido anteriormente comentada en el apartado (2.3.2. Factores que influyen a la composición de la microbiota telúrica), es extremadamente compleja.

La primera clasificación en grupos ecológicos presentada por Burges (1960), y atribuida a Winogradsky dividía a los organismos del suelo en dos grupos: autóctonos, que eran las verdaderas formas del suelo y las mantenedoras de los procesos bioquímicos de forma más o menos continua y zimógenos, refiriéndose a aquellos que entraban en actividad cuando disponían de un sustrato alimenticio apropiado. Surge el “concepto de flora autóctona” para agrupar cuando están en fase vegetativa y “flora zimógena” cuando están en fase latente.

Ciertamente, esto puede ocurrirle a cualquier microorganismo del suelo y no es posible separar una fase de otra que agrupe a los microbios por separado. Sin embargo, esto motivó trabajos para diferenciar las hifas vegetativas de los reservorios de esporas, permitiendo encontrar micelio vegetativo en el suelo aceptándose así que los hongos son verdaderos organismos del suelo, puesto que desarrollan su ciclo vital en él (Waksman, 1944).

Burges escribió sobre los hongos autóctonos del suelo a los que denomina verdaderos habitantes del suelo como los descomponedores iniciales de la materia orgánica añadida al suelo (zimógenos) y a los autóctonos como aquel grupo más estable que no son afectados por dicha materia orgánica. El autor observó la presencia de *Zygorrhynchus*, hongo cuyo micelio se ramifica vigorosamente, en las capas más profundas de suelos arenosos, demostrando que su fuente alimenticia es la sustancia orgánica de la solución del suelo, compuesta por pequeñas cantidades de azúcares simples y aminoácidos.

A pesar de este planteamiento, algunos investigadores mantenían que ningún hongo es verdaderamente autóctono. Por lo que, se considera verdaderos organismos del suelo a todos aquellos que viven, naturalmente, en este medio sin asociarse a un huésped, animal o vegetal.

Garret (1956) define con mayor exactitud a los habitantes del suelo separándolos de los invasores, siendo el parasitismo y en consecuencia las fuentes nutritivas los que delimitan a unos y definen a otros:

Habitantes del suelo, se definen como parásitos primitivos en los que el parasitismo es compatible con una vida saprofitica en el medio edáfico.

Invasores son “aquellos del más alto grado de especialización que mueren ante la prolongada ausencia de sus hospedadores, debido a su sustitución por saprofitos en la competición por la materia orgánica muerta”.

El mismo autor corrige sus definiciones, y así habitantes del suelo son los organismos caracterizados por la capacidad de conservarse indefinidamente como saprofitos del suelo. Mientras que los hongos habitantes de la raíz, equiparables a los invasores, se caracterizarían por una extensa fase parasitaria en la vida de la planta hospedadora y por una fase saprofitica después de la muerte del huésped.

Sin embargo, el estudio realizado por Rodríguez Molina (1996), muestra como en suelos no cultivados (pinares) y cultivados (esparrago, cerezos, hortalizas, etc) aparecen las mismas especies de los géneros de hongos *Fusarium spp* y *Pythium spp*. Debido a esto, algunos autores ponen en duda que la especialización patogénica sea incompatible con una vida saprofitica en el suelo (Cooke y Whipps, 1980; Raper, 1968 y Lockwood, 1988). De hecho, los trabajos de Tello y Lacasa (1990) demuestran como *Fusarium oxisporum f.sp lini* (parásito especializado) es capaz, en ausencia del hospedador de germinar en turba de uso hortícola y de esporular produciendo microconidias en un sustrato orgánico enriquecido.

BACTERIAS

Las bacterias constituyen un grupo abundante y diverso de habitantes del suelo, posiblemente por ser capaces de crecer rápidamente y poder utilizar una gran variedad de compuestos como fuentes de carbono y de nitrógeno. Las bacterias se localizan en la superficie de las partículas del suelo, pudiendo interaccionar con las raíces de las plantas, ya que hay una alta concentración de nutrientes. La función básica de las bacterias es la descomposición y mineralización de los residuos orgánicos, de donde obtienen su fuente energética y alimenticia. Mediante su metabolismo liberan, al medio, sustancias como enzimas, proteínas, reguladores de crecimiento, metabolitos y algunos nutrientes.

Las bacterias son agrupadas según su habilidad para desarrollarse en distintos tipos de ambientes, pudiendo ser aerobias, anaerobias o facultativas en función de la presencia o ausencia de oxígeno, así como a diferentes niveles de pH en el suelo, siendo estas acidófilas, basófilas o neutrófilas. En algunos suelos ácidos algunas bacterias neutrófilas tienen la capacidad de neutralizar

el suelo donde habitan para cumplir su función. Por otra parte, las bacterias pueden crecer sintetizando compuestos orgánicos (heterótrofas) o inorgánicos (autótrofas), y crecer en un amplio rango de temperatura. La mayoría de las bacterias del suelo que son importantes para las plantas son heterótrofas, aerobias y mesófilas.

Algunas bacterias producen endósporas o quistes latentes que les proporcionan resistencia a situaciones adversas como cambios de temperatura, niveles extremos de pH y desecación del suelo. De esta forma, las bacterias son capaces de subsistir en el suelo hasta que las condiciones se tornen favorables. Otras, se protegen de la depredación y de la desecación emitiendo una cápsula de sustancia mucoide, existiendo otras que se desplazan en la solución del suelo mediante un flagelo para encontrar más fácilmente el sustrato alimenticio.

Sin embargo, a pesar de la gran diversidad de bacterias encontradas en el suelo, las bacterias edáficas benéficas que colonizan las raíces de las plantas han sido objeto de numerosos estudios. En la actualidad, un número importante de estas han sido comercializadas para cultivos. Las acciones de estos microorganismos benéficos para las plantas pueden ser directas o indirectas, promoviendo el crecimiento y/o reduciendo la enfermedad producida por patógenos. El desarrollo y crecimiento de la planta se puede ver favorecido por la disponibilidad de N, hormonas de crecimiento y nutrientes como el hierro o el fósforo proporcionados como compuestos sintetizados por diferentes bacterias. Mientras, la reducción de enfermedades es atribuida a bacterias que controlan fitopatógenos ya sea produciendo sustancias inhibitorias o incrementando la resistencia natural de la planta.

La resistencia inducida aportada por ciertos microorganismos edáficos, no causantes de enfermedad, en plantas, permite a la planta expresar una resistencia a patógenos que en ausencia de ellos no se manifiestan. Bacterias como *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *Pseudomonas spp.* han sido estudiadas en ambientes controlados, obteniendo resultados de resistencia a enfermedades, al contrario de lo ocurrido cuando estos microorganismos eran introducidos en el ecosistema suelo-planta-patógeno. Sin embargo, esta inducción depende del número de bacterias que colonicen el sistema radical (Van Loon et al, 1998).

Además ha sido demostrada, la capacidad de controlar patógenos por géneros de bacterias como *Pseudomonas spp.* y *Bacillus spp.*, sintetizando moléculas antifúngicas especialmente hongos causantes de enfermedad. Asimismo, existen cepas bacterianas capaces de sintetizar sustancias contra otras bacterias, los antibióticos (Whipps, 2001).

Dentro de las bacterias promotoras del crecimiento radicular encontramos géneros como *Acetobacter spp.*, *Azotobacter spp.*, *Azospirillum spp.*, *Burkholderia spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Bacillus spp.* (Kloepper, 1989). Sin embargo, algunas bacterias invaden los tejidos de la planta vivas, causando infección (Antoun y Prévost, 2006).

HONGOS

Una importante fracción de la biomasa total microbiana del suelo está conformada por los hongos. Estos crecen en forma de red extendiéndose su micelio hasta su estado reproductivo donde dan origen a esporas sexuales o asexuales.

Una de las funciones fundamentales de los hongos filamentosos en el suelo es degradar la materia orgánica y ayudar en la agregación de partículas del suelo. Además de esta propiedad, ciertas especies de *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Gliocladium spp.*, *Humicola spp.* o *Helminthosporium spp.* producen sustancias similares a las sustancias húmicas del suelo, y por lo tanto, pueden ser importantes en el mantenimiento de la materia orgánica del suelo. Los hongos metabolizan compuestos carbonados de muy difícil degradación como las celulosas, las hemicelulosas y las ligninas, así como, azúcares simples, alcoholes, aminoácidos y ácidos nucleicos. Los hongos son muy importantes en suelos con desechos de cosecha. Su rápido crecimiento ramificado y la intensa actividad degradadora les permiten mantener un equilibrio en los ecosistemas del suelo.

Las raíces de las plantas están pobladas de hongos que aprovechan las exudaciones radiculares constituidas por azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, nucleótidos, enzimas, vitaminas y sustancias promotoras del crecimiento. Los hongos movilizan nutrientes minerales hacia las raíces de las plantas, aumentan la capacidad de retener agua en sequía, fijan nitrógeno y fósforo, además de proteger a las raíces de fitopatógenos, como se ha señalado anteriormente, por competición por el espacio y emitiendo, en algunos casos, sustancias que inhiben el crecimiento del patógeno. Algunos hongos entran en simbiosis con las raíces de las plantas, hongos micorrizas que aportan efectos benéficos en la planta.

La mayoría de hongos que son aislados del suelo están dentro de la clase Hongos Imperfectos en virtud del hecho de que producen abundantes esporas asexuales y carecen del estado sexual. Los miembros de esta clase se distinguen por su micelio septado y el conidióforo, del cual se forman continuamente conidias o esporas.

Los géneros encontrados comúnmente en el suelo y que se pueden aislar por métodos convencionales son: *Aspergillus spp.*, *Botrytis spp.*, *Cephalosporium spp.*, *Gliocladium spp.*, *Monillia spp.*, *Penicillium spp.*, *Scopurialopsis spp.*, *Trichoderma spp.*, *Verticillium spp.*, *Alternaria spp.*, *Cladosporium spp.*, *Pulularia spp.*, *Cylindrocarpon spp.*, *Fusarium spp.*, *Absidia spp.*, *Cunninghamella spp.*, *Mortirella spp.*, *Muco spp.r*, *Rhizopus spp.*, *Zygorhynchus spp.* y *Pythium spp.* (Oomiceto); *Chaetomium spp.* (Ascomiceto) y *Rhizoctonia spp.*

ESTUDIO TAXONÓMICO DE LOS HONGOS COMUNMENTE AISLADOS

Los micromicetos componentes de la denominada microbiota total se han identificado siguiendo los manuales más comunes en los laboratorios de Patología Vegetal: Barnet y Hunter (1972), Sutton (1980) al igual que hicieran Tello *et al.*,(1992), basándose en las fichas descriptivas de la EPPO. Para la identificación de las especies del género *Fusarium* se utilizaron los trabajos de Gerlach y Nirenberg (1982) y Nelson *et al.*,(1983). La taxonomía fúngica es dinámica y progresiva, variando de un autor a otro de ahí la clave de una breve identificación morfológica radique, principalmente, en el material bibliográfico empleado para dicha identificación.

Aspergillus spp.

Género perteneciente a la subdivisión Deuteromycotina, orden Moniliales, familia Moniliaceae.

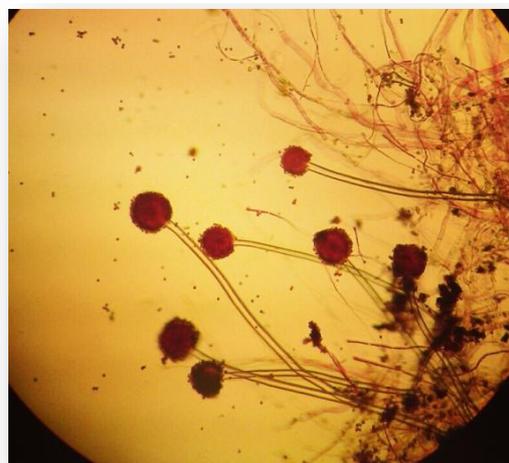
En 1965, Rapper y Fennel, señalaron la existencia de 18 grupos y reconocieron 132 especies. Su aspecto en el medio agar malta acidificado es aterciopelado mostrando una pigmentación en la superficie verde-azulada, negra o amarillo-verdosa en función de la especie, que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios.

El micelio es septado, ramificado, generalmente sin colorear, las partes sumergidas en el agar son vegetativas y las aéreas, en su mayor parte, fértiles. Las colonias a menudo, presentan zonas circulares (Abarca, 2000). Los conidios de este grupo, son de color verde, y las ascosporas se encuentran en ascas comprendidas en peritecios cuya coloración va de amarilla a rojiza. El conidióforo, septado o no, surge de una célula basal, que es una célula micelial, agrandada y rodeada de una gruesa cubierta.

La clasificación del género *Aspergillus spp.* en subgéneros y secciones está basada fundamentalmente en cuatro características: presencia de teleomorfo, presencia o ausencia de métulas; disposición de las métulas o fiálidas sobre la vesícula y coloración de las colonias (Abarca, 2000).

En medio agar-malta acidificado, las colonias de *Aspergillus flavus* son de rápido

Figura 5. Detalle de *Aspergillus spp.* mediante microscopio.



crecimiento, granuloso, presentan un color que vira del amarillento al amarillo verdoso, el micelio es blanco y apenas visible; los esclerocios, cuando están presentes, son de color marrón, variables en tamaño y forma. El reverso de la placa muestra colonias generalmente incoloras y en ocasiones, amarillo crema.

***Penicillium* spp.**

Género perteneciente a la subdivisión Deuteromycotina, orden Moniliales, familia Moniliaceae.

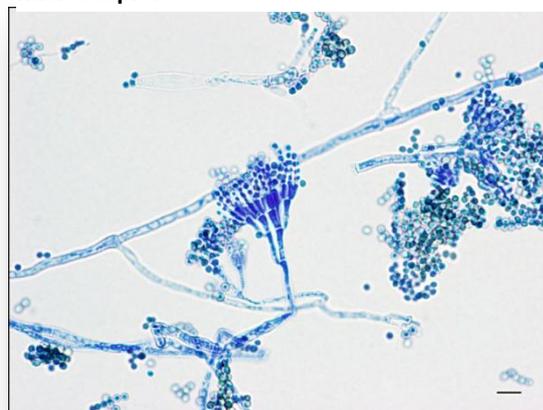
Penicillium spp, está constituido por varios grupos y subgrupos con unas 150 especies (Pitt, 1979) basándose en la ramificación de cabezuelas o penicilios. La diferenciación de especies de *Penicillium* a demás de realizarse mediante la visualización morfológica microscópica se utiliza caracteres fisiológicos macroscópicos, que incluyen el diámetro de las colonias, la coloración de los conidios y los pigmentos de las colonias.

Las colonias de *Penicillium* son circulares si no hay interferencia alguna que impida su crecimiento, con un borde neto muchas veces sin fructificación y mostrando el color del micelio. Normalmente, éste, suele ser blanco pero en algunas especies es amarillo, anaranjado, púrpura o pardo claro. La superficie de la colonia madura, puede ser aterciopelada, ligeramente algodonosa o con pequeños haces de conidióforos (Pitt, 1979).

El género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálidas. Las ramificaciones se ubican formando verticilos. El micelio es tabicado, penetra en el sustrato y después produce hifas aéreas en las que se desarrollan los conidióforos. Los filamentos o hifas alcanzan un diámetro entre 2-3 µm y tienen septos con un poro central que no es visible al microscopio óptico.

Con estas aclaraciones, se hace necesaria la correcta diferenciación de los penicilios de otros géneros de hongos que forman esporas en conidióforos ramificados. Uno de los más similares es el género *Paecilomyces* que tiene fiálidas con el ápice muy alargado, conidios elípticos y

Figura 6. Detalle de *Penicillium* spp. mediante microscopio.



colonias de tonos pardos pero nunca verdes. Las esporas del género *Gliocladium* tienen fiálidas con el extremo curvado y esporas mucosas que se aglomeran, mientras que los penicilios originan xerosporas en fiálidas con un eje de simetría. También las especies de *Trichoderma* forman conidios mucosos que se reúnen en cabezuelas con tonos verdes.

***Trichoderma* spp.**

Pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, orden Moniliales, familia Moniliaceae. *Trichoderma* es considerado un habitante común del suelo, perteneciente a los hongos saprófitos, a menudo, es aislado de suelos tanto cultivados como no y en todas las latitudes.

El género se caracteriza por tener micelio septado (Frazier y Westhoff, 1978). Posee conidióforos erectos, también septados, altamente ramificados más o menos cónicos, débil o fuertemente verticilados (Pelczar *et al.*, 1977). Las fiálidas tienen apariencia de racimos, desde las que son sostenidas las conidias no septadas, subglobosas y viscosas de color verde brillante que forman bolas brillantes. Frecuentemente forman clamidosporas, intercaladas o raramente terminales, las cuales son unicelulares, globosas, hialinas y de suave pared.

El hongo crece y se ramifica en típicas hifas que pueden oscilar entre 3 y 12 μm de diámetro, según las condiciones del medio en el que se esté reproduciendo. La esporulación asexual ocurre en conidios unicelulares de color verde.

Figura 7. Detalle de *Trichoderma* spp. mediante microscopio.



ESTUDIO TAXONÓMICO DE LOS OOMICETOS COMUNMENTE AISLADOS

***Pythium* spp.**

El género *Pythium* pertenece a la clase Oomycetes, reino Chromista. El género se encuentra ampliamente distribuido a lo largo del globo terrestre, y aproximadamente 150 especies han sido descritas (Kirk *et al.*, 2008). Varias especies son conocidas como patógenos de numerosas plantas, y muchos de ellas muestran un amplio rango de hospedadores si es comparado con otros géneros como ocurre para *Phytophthora*.

La taxonomía de *Pythium* está basada generalmente en las características morfológicas como son la forma y tamaño de los esporangios y los oogonios, la extensión de las oosporas en el oogonio (plerótico o aplerótico), el número de anteridios por oogonio, y la posición de los anteridios en relación al oogonio (Waterhouse, 1963; Van der Plaäst-Niterink, 1981; Dick, 1990).

Los miembros de *Pythium* son considerados un grupo de especies muy difícil de identificar debido a que estas características son, a menudo, muy similares entre diferentes especies y, a veces, las formas que delimitan a una especie u otra no se desarrollan en el medio agar.

La taxonomía de las especies del género *Pythium*, en general, se basa en unas cuantas estructuras morfológicas distintivas, relacionadas con la formación de esporangios y oosporas o conidios.

Esporangio: estructura en forma de saco que contiene un número indefinido de esporas asexuales móviles denominadas zoosporas. El tiempo requerido para la formación de esporangios en cultivo, así como su morfología y abundancia son factores variables en función de la especie. Dos tipos de esporangios están presentes, filamentosos y globosos.

Pythium es un oomiceto que produce micelio intracelular, segrega una cantidad indefinida de enzimas. El micelio produce esporangios donde se desarrollan las zoosporas (son liberadas al medio). El hongo puede permanecer en el suelo como saprofito, sin embargo, con el exceso de humedad, la temperatura desfavorable para la planta, la repetición de un cultivo en el mismo suelo son factores que influyen en la patogenicidad de la especie.

Garret (1970) describe a los componentes del género como parásitos no especializados, debido a que la mayoría de sus especies son poco específicas en sus ataques pudiendo actuar como patógenas sobre gran variedad de plantas.

***Phytophthora* spp.**

El género *Phytophthora* pertenece al reino Chromista, División Oomycota, familia Peronosporales. Este género fue descrito por Bary en 1987 con *P.infestans* de Bary, reconociendo a dicho oomiceto como responsable del “blight” tardío en la patata en Europa (1980). *Phytophthora* ha sido estudiado en una gran variedad de investigaciones por las graves pérdidas económicas ocasionadas así como por su amplia distribución en el mundo. El género *Phytophthora* se distingue de los verdaderos miltos por sus esporangióforos con ramificación indeterminada y de *Pythium* spp. por la diferenciación completa de zoosporas móviles dentro de los esporangios antes de ser liberados (Libro Enfermedades de plantas).

Todas las especies del género poseen un micelio hialino, continuo, de paredes paralelas o irregularmente calibradas, donde pueden observarse abundantes gotas oleaginosas. El micelio es cenocítico, observándose solo raramente la presencia de algunos tabiques (1, 49). El micelio es capaz de vivir de forma saprófita sobre las partículas de materia orgánica del suelo en ausencia del huésped (13, 16). Sin embargo, según otros autores (51) la invasión de materia orgánica por parte del micelio es muy pobre, y el movimiento de este a través del suelo es pequeño o nulo.

La presencia de esporangios es común para todas las especies del género, son incoloros o de color amarillo tenue y de manera general se insertan terminalmente en el es. El esporangióforo no se diferencia normalmente de las hifas, aunque en algunas ocasiones puede ser más ancho o delgado que estas.

La capacidad de producir estructuras sexuales es una característica del género *Phytophthora*. El oogonio es la componente femenina y el anteridio la masculina. El oogonio está separado de las hifas por un septo, es globoso o casi globoso, hialino (en ocasiones, se pigmenta ligeramente tomando coloración amarilla o marrón) (Erwin y Ribeiro, 1996). El anteridio puede ser esférico, oval, claviforme o cilíndrico, está separado de la hifa por un septo y se une a la base del oogonio, atrapándolo (anfigino) o por la parte hemisférica inferior (paragino). La forma de unión del anteridio al oogonio es un carácter diferenciador de grupos de especies.

2.4.4. Microorganismos asociados a la rizosfera

La rizosfera es entendida como la zona del suelo que rodea a las raíces y es influenciado biológica y físicamente por las mismas (Kluepfel, 1993). En la rizosfera tiene lugar una interacción dinámica con los microorganismos y las características químicas y biológicas se manifiestan en una porción de apenas 1 mm de espesor a partir de las raíces (Coyne, 2000). En un sentido más amplio, la rizosfera se puede considerar como la porción del suelo en la que se encuentran las raíces de las plantas, ya que es una zona donde se originan una serie de relaciones físicas y químicas que afectan a la estructura del suelo y a los organismos que viven en él, proporcionándole unas propiedades diferentes. Según Dommerges Y Mangenot (1970) la rizosfera se define teóricamente como la zona del suelo donde la microflora telúrica sufre la influencia de las raíces, conformando un microhábitat con límites no muy bien definidos.

De manera general, se consideran dos zonas en la rizosfera, como consecuencia de no ser una región homogénea, puesto que un gradiente de estimulación de los microorganismos desde la propia

superficie de la raíz 1-2mm donde el efecto es mínimo (Barea y Azcón-Aguilar, 1982). Además, estos autores describen una tercera zona:

Rizosfera: definida como la fina capa del suelo que se adhiere a las raíces.

Rizoplano o rizoplana: constituida por una superficie de la raíz y los microorganismos que viven en ella.

Endorizosfera: tercera región formada por tejidos corticales de la raíz, invadidos y colonizados por microorganismos saprófagos y simbióticos.

Las características principales observables en la rizosfera si se le compara con el suelo no colonizado por la raíz, es la estabilidad de las partículas del suelo, tanto por la acción mecánica de las raíces, como por la acción agregante de los exudados de los diferentes organismos presentes (plantas y microorganismos). Por otro lado, por tratarse de una zona de actividad biológica intensa, con una transferencia importante de agua y nutrientes, generalmente los microorganismos, son encontrados en mayor número y diversidad, si se le compara con el suelo no rizosférico (Grant y Long, 1989).

En general, los microorganismos que habitan en la rizosfera sirven como un intermediario entre la planta, que requiere nutrientes inorgánicos solubles y el suelo que contiene los nutrientes necesarios pero mayoritariamente en formas inaccesibles y complejas. Kluepfel (1993) señaló que aunque existe una alta población microbiológica que se concentra en la rizosfera, ésta muy poco se ha examinado con detalle. El grupo de microorganismos y otros agentes que se encuentran en la rizosfera incluyen bacterias, hongos, nematodos, protozoos, algas y microartrópodos (Johansson *et al.*, 2004).

En la zona próxima a la raíz, Pochon y De Barjac (1958) suponen que las raíces vegetales modifican el equilibrio de las poblaciones microbianas del suelo. La producción por parte de las raíces de gas carbónico, sustancias de acción energética, enzimas o auxinas, así como descamaciones celulares que pueden ser metabolizadas por los microorganismos, modifican la microbiota telúrica, considerando así que las raíces de las plantas crean un nuevo microhábitat, o al menos nuevas condiciones en el hábitat. El suelo soporta diferentes efectos debido a la presencia de las raíces tales como disminución de la concentración de ciertos nutrientes minerales, descamación parcial de la zona por absorción de agua, aumento de la cantidad de carbonatos por la eliminación del dióxido de carbono, incremento de las sustancias alimenticias para los microorganismos al exudar y desprenderse parte de ella.

El crecimiento de la raíz a través del suelo ejerce importantes efectos sobre la población microbiana edáfica. La raíz activa y, en particular la zona situada inmediatamente por encima del ápice de la raíz, exuda sustancias orgánicas e inorgánicas que refuerzan la actividad microbiológica, aunque algunas de ellas exudan sustancias nocivas para ciertos microorganismos.

Whipps *et al.* (2001) encontraron que la liberación de material orgánico desde las raíces, no solo proporciona la energía necesaria para el desarrollo de poblaciones de microorganismos saprofitos y patógenos sino que también promueven la quimiostasis de los mismos hacia ellas, estableciéndose competencia por el carbono, llegando a comportarse como saprofitos facultativos, dependiendo del tipo de suelo, tamaño de la población microbiana, contenido de materia orgánica y distancia entre planta, raíces y semilla.

El estímulo de los microorganismos supone que está motivado por sustancias procedentes de la secreción radicular y de la autolisis de las células de la raíz muertas o próximas a morir (Prikryl y Vancura, 1980; Schonwitz y Zeigler, 1982; Gardner *et al.*, 1983; Rovira *et al.*, 1988; Meharg y Killham, 1991; 1995). A este estímulo que deriva en un incremento de la actividad microbiológica en la rizosfera, recibe el nombre de efecto rizosférico, pudiendo afectar positiva o negativamente a la actividad de la microbiota del medio edáfico.

Numerosos estudios pusieron en evidencia que el efecto rizosfera depende de la especie vegetal (Vancura y Hanzlikova, 1972; Curl y Truelove, 1985), de la edad, cantidad de proteínas y de carbohidratos liberados por plantas herbáceas que se ven reducidos conforme aumenta la edad de la planta (Juo y Stotzky, 1970; Liljeroth y Baath, 1988; Parkinson, 1957; Frenzel, 1960; Jiménez *et al.*, 2009) y del vigor de la planta. Concretamente, la calidad de los componentes liberados por las raíces de las plantas parece influir fuertemente en la composición y actividad en la rizosfera, un ejemplo de ello se aprecia en la preferencia de ciertas bacterias por los exudados de raíz de diferentes plantas. Así, los mayores efectos de la rizosfera sobre los microorganismos se aprecian, en general, cuando la planta alcanza su tamaño normal y empieza a florecer. De Cara (2007) compara hongos aislados de suelo y de la raíz de la planta del melón apareciendo en ambos casos hongos de los géneros *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Macrophomina phaseolina*, *Curvularia spp.*, *Rhizopus spp.*, *Alternaria spp.*, *Phoma spp.*, *Paecilomyces spp.*, *Trichoderma spp.*, *Pythium spp.*, *Stemphylium spp.*. Sin embargo, en las raíces de las plantas aparecieron además *Pythium spp.*, *Monosporascus cannonballus*, *Olpidium bornovanus* y *Fusarium oxisporum* f.sp. *melonis*.

El origen de las sustancias excretadas pueden ser inorgánicas, pero las que más actúan sobre los microorganismos son las orgánicas (azúcares y aminoácidos). Entre estas sustancias se han descrito

numerosos aminoácidos (lisina, glicina, serina, asparagina, leucina, treonina, glutamina, etc) y azúcares (glucosa y fructosa). Los tipos de exudados que frecuentemente se encuentran son: carbohidratos del tipo de los oligosacáridos, mono, di y trisacáridos. Como exudados importantes también se encuentran factores del crecimiento como la tiamina, niacina, colina, inositol, piridoxina, ácido *N*-metil nicotínico, etc., que son necesarios para el desarrollo tanto de hongos, bacterias, actinomicetos y algas como para la microfauna (protozoos, nemátodos e insectos) (Ferrera-Cerrato y Pérez-Moreno, 1995). Se encuentran también otros compuestos como son los nucleótidos, flavomonas y enzimas (fosfatasas, invertasas, amilasas, proteasas), así como hormonas vegetales (auxinas, citoquininas, ácido giberélico, etc.) y otros importantes para la actividad.

3. Materiales y Métodos

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Emplazamiento del ensayo

El ensayo se realizó durante la campaña de primavera del 2012 en la finca experimental de la fundación UAL-ANECOOP, emplazada en el paraje Los Goterones, en la provincia de Almería, polígono 24, parcela 281 (longitud 2,1708° y latitud 36,5177°).

La superficie de la finca es de aproximadamente 140.000 m², ocupados principalmente por diferentes invernaderos (la mayoría de ellos con estructura multitúnel y de tipo “raspa y amagado”) utilizados para la realización y el desarrollo de ensayos de investigación. Así mismos la finca presenta también varias naves destinadas a distintos usos (oficinas, salas de sistemas de riego, laboratorio, etc.



Figura 8. Situación de la finca experimental “Fundación UAL-ANECOOP”. EP.

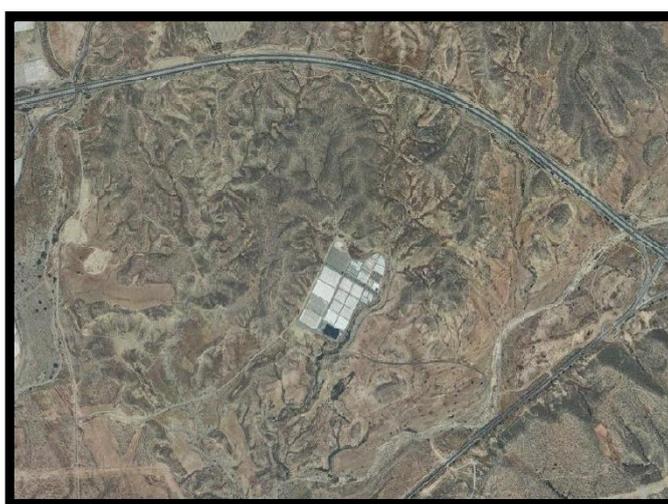


Figura 9. Localización de la finca UAL-ANECOOP. Fuente: Instituto de cartografía andaluza.



Figura 10. Plano de la finca experimental "Fundación UAL-ANECOOP"

3.2. Características del invernadero

El ensayo se realizó en el invernadero U7, con una superficie invernada de 1917 m² y cultivada de 1784 m² dividido este en dos tablares (Norte y Sur) cuya superficie es de 892 m². Este invernadero fue construido en el año 2004, siendo la campaña 2004-2005 la primera campaña agrícola.

3.2.1. Estructura

El invernadero U7 posee una estructura de "raspa y amagado" o a dos aguas (siendo los más comunes en la provincia de Almería). Este tipo de invernaderos presentan una gran resistencia respecto al control del agua de lluvia que es evacuada mediante sistema de canaletas al exterior. Este tipo de invernadero "raspa y amagado" surge de la evolución del invernadero plano. Consta de una cubierta a dos aguas y una mayor altura en la cumbre, mejorando la inercia térmica y favoreciendo la captación de radiación solar.





Figuras 11 y 12. Vista exterior del invernadero raspa y amagado donde se realizó el ensayo.

Presenta una distancia entre raspas consecutivas de 8 m., altura en la raspa o cumbre de 4,70 m. (tubo + bloque). La distancia entre tubos de la misma fila es de 2 m., así como la distancia de amagados de la misma fila.

La altura de la banda del invernadero es de 3,40 m. La distancia entre pies perimetrales consecutivos de la banda es de 2 m. y están formados por perfiles de acero laminado IPN-120, con una inclinación de 60° aproximadamente respecto al suelo.

Referente a los materiales empleados en la estructura, los postes son tubos de acero galvanizado y la cuadrícula (33 x 33 cm.) de alambre de acero triple galvanizado. El material de la cubierta es de plástico tricapa de 800 galgas, color blanco y 3 campañas de duración. Este plástico tiene efecto térmico para evitar o disminuir posibles riesgos de inversión térmica, favoreciendo en este aspecto el desarrollo del cultivo, así como un efecto de difusión de la luz que penetra en el invernadero que reduce el sombreado o falta de luz en plantas y frutos.

El invernadero consta de dos entradas, ambas poseen doble puerta con antesala, cuya función es impedir la entrada de insectos vectores en el invernadero al entrar y salir del mismo.

3.2.2 Orientación

La orientación que presentan los invernaderos es Este-Oeste, mientras que las líneas de cultivo presentan una orientación Norte-Sur.

3.2.3 Sistemas de ventilación

El invernadero dispone en las bandas de ventanas laterales enrollables de plástico con apertura automatizada. El sistema de ventilación cenital es de tipo cremallera, también con apertura

automatizada. En total, presenta 108 m. lineales de ventanas, divididos en 3 ventanas de 36 m. cada una, siendo el ancho de unos 0,70 m., y construidas con tubos galvanizados de 25 x 25 mm., y protegidas con mallas antitrips de 20 x 10 hilos/cm para evitar la entrada de plagas e insectos vectores de enfermedades.

3.2.4. Suelo

Se trata de un suelo de desmonte con enmienda física. Presenta un enarenado típico almeriense, en el que, sobre el suelo original previamente nivelado y enmendado con gravilla, se aportó una capa de estiércol con un espesor de unos 8 mm. y sobre ésta capa, otra de arena de granulometría gruesa de unos 10 cm de espesor.

En la tabla 3 figuran los datos del análisis del extracto saturado realizado al suelo de la finca el 19 de septiembre de 2005 en los "Laboratorios EYCOM S.L." de Almería.

Tabla 3. Análisis del extracto saturado del suelo de la finca.

Resultados			
PARÁMETRO			
Materia Orgánica (%)	1,91	<2% Nivel bajo	
Carbono orgánico (C9 (%))	1,11		
Carbonatos totales (CaCO ₃) (%)	35,8	25-40 Contenido alto	
Caliza activa(CaCO ₃) (‰)	6,0	0-60 Normal	
Potasio asimilable (ppm)	471	>250 Contenido alto	
Fósforo asimilable (Olsen) (ppm)	86	>10 Nivel rico	
Nitrógeno nítrico (ppm)	97		
ANÁLISIS TEXTURAL			
		Textura Franco-Arenosa	
		Arena:60%. Limo:25%. Arcilla:15%	
CATIONES DE CAMBIO			
	ppm	meq 100 g⁻¹	% meq
Sodio	293	1,27	1,49
Potasio	471	1,20	1,41
Calcio	16158	80,63	94,28
Magnesio	294	2,42	2,83
Cationes totales	17215	85,52	
EXTRACTO SATURADO			
pH	7,7	Alcalino	
CE (μS/cm)	3350	Salinidad escasa	
Relaciones Iónicas			
Ca ⁺⁺ /Mg ⁺⁺	33,35		
Ca ⁺⁺ /Na ⁺	63,33		
K ⁺ /Mg ⁺⁺	0,50		

3.2.5 Sistemas de riego

El sistema de riego de toda la finca experimental de la fundación UAL-ANECOOP es gestionada desde la sala de cabezales de riego. El sistema se compone básicamente por los siguientes elementos: dos balsas impermeabilizadas, sistema de inyección de fertilizantes, sistema de impulsión de la solución final a los goteros, ordenador y cuadro de control.

Balsas de riego

La finca dispone de 2 balsas para riego, cada una con una capacidad de unos 5000 m³., impermeabilizadas y cubiertas con polietileno negro, evitando así pérdidas por evaporación, descomposición y proliferación de algas. Una de las balsas almacena agua procedente de la planta depuradora de Almería, que presenta una CE 1,8-2 dS · m⁻¹. La otra balsa almacena agua de lluvia, que es recogida por las canaletas instaladas en los invernaderos de la finca y reconducida a través de una red de tuberías, su CE es de 0,3-0,6 dS · m⁻¹.

Para el impulso del agua, existen dos bombas centrífugas multicelulares (una para cada balsa). El sistema permite bombear y mezclar el agua hasta el tanque de mezclas situado en el cabezal según requerimientos del cultivo, es decir, en función de la conductividad eléctrica deseada. El agua una vez mezclada se divide en dos caudales para abastecer los dos cabezales de riego utilizados en los invernaderos enarenados y cultivo sin suelo respectivamente, se filtra a través de dos filtros de anillas correspondientes a cada caudal y se registran los volúmenes de riego consumidos que pasan en dos caudalímetros,, situados aguas arriba de los cabezales.



Figura 13. Detalle de las balsas en las que se almacena el agua de riego.

Cabezal de riego

Sistema de impulsión: básicamente consta de una bomba centrífuga de impulsión de 3 CV de potencia y de un piezómetro de estabilización del flujo de agua

Sistema de inyección de fertilizantes: el ensayo es abastecido mediante un cabezal en el que se inyectan los fertilizantes. Los elementos del equipo de fertirriego se gestionan desde la sala de cabezales de riego mediante un programador. Mediante el sistema de inyección se realiza la mezcla de las soluciones madre de fertilizantes y ácido con el agua de riego para obtener la solución de riego final. Consta de los siguientes elementos:

- Tanque de solución de fertilizante madre
- 5 tanques con capacidad para 1000 L cada uno
- 1 tanque con capacidad para 500 L para microelementos
- Bomba inyectora de fertilizante
- Electroválvula
- Ordenador de control

El agua llega a un tanque de mezclas con capacidad de 200 litros, provisto de una boya para mantener su nivel, sobre este tanque se inyecta la proporción designada de cada uno de los tanques de solución. El sistema cuenta con dos sensores de pH y dos de CE para detectar posibles errores en el circuito. En caso de error, el sistema está programado para detener el abastecimiento hídrico.

Sistema de filtrado: dispone de un filtro de mallas que retiene las impurezas que puedan existir en la solución fertilizante.



Figura 14. Detalle del cabezal de riego de la finca experimental UAL-ANECOOP

Red de distribución

La red de distribución comienza con una tubería de impulsión que se extiende desde el cabezal de riego hasta el invernadero. Existe una electroválvula principal con la que se controla el paso del agua desde el sistema de fertirriego hasta los ramales de riego.

En el invernadero, el sistema se divide en cuatro sectores de riego independientes, que son controlados con electroválvulas. El sistema por goteo del que dispone el invernadero queda restringido a un total de 44 ramales portagoteros constituido por 21 líneas dobles y dos líneas simples en los extremos, por la superficie total de la que consta el invernadero, 1750 m². Dichos ramales portagoteros se encuentran colocados en líneas pareadas con 0,5 m de separación entre ambas, y 1,50 m de separación entre ramales en pasillos. Los emisores empleados son autocompensantes, antidrenantes y de caudal nominal de 3l·h⁻¹.

3.3. Material Vegetal

La producción de semilla triploide (que después producirá frutos sin semilla) se logra mediante el cruce de una línea tetraploide como el componente femenino con una línea diploide como donante de polen. El polen que producen las plantas triploides no es viable y la cantidad del mismo es mínima. Es por ello que en un campo de producción de sandías sin semillas se debe de sembrar las plantas triploides acompañadas con un polinizador diploide.

Variedad comercial

La especie empleada en este ensayo fue *Citrullus lanatus* cv. Fenway, siendo una variedad comercializada por la empresa MONSANTO COMPANY. Se trata de una variedad triploide de planta muy vigorosa y productiva. Frutos redondos, uniformes y con un peso medio de 4-5 kg. La piel externa es oscura. La carne es de color roja, destacando por su sabor, textura y alto contenido en azúcar. Se trata de una variedad bien adaptada a las condiciones de invernadero y aire libre.



Figura 15. Detalle del aspecto exterior del cv. Fenway.

Variedad polinizadora

La especie empleada en el ensayo como superpolinizador fue *Citrullus lanatus* cv. Crisby, una sandía diploide.



Figura 16. Detalle del aspecto exterior de la variedad Crisby.

3.4. Técnicas de cultivo

A continuación se detallan los procedimientos culturales seguidos en cada etapa del ensayo.

3.4.1 Ciclo de cultivo

El ciclo de cultivo, un ciclo corto de primavera, se llevó a cabo del 1 de Febrero al 15 de Mayo del 2012 cuando se realizó la segunda y última recolección.

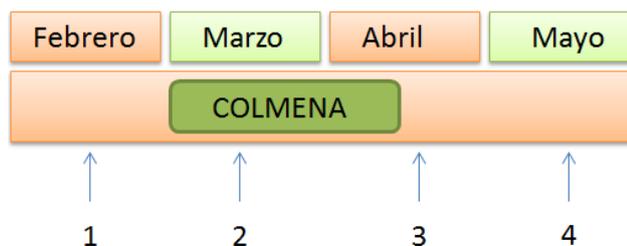


Figura 17. Detalle de muestreo por meses.

- 1- 1 de Febrero de 2012: Trasplante de la plántula procedente de semillero.
- 2- 17 de Marzo de 2012: Introducción de la colmena en el invernadero.
- 3- 10 de Abril de 2012: Retirada de la colmena.
- 4- 8 y 15 de Mayo de 2012: Cosecha del cultivo.

3.4.2 Marco de plantación

Se trabajó con un marco de plantación de 4 m entre cada línea de cultivo y de 1 m entre plantas, dando como resultado una densidad de plantación de 0.25 plantas/m².



Figura 18: Detalle del marco de plantación de sandía

En total, el ensayo constaba de 400 plantas entre todas las divisiones parcelarias que se realizaron.

3.4.3 Trasplante

Cuando las plántulas adquirieron el tamaño adecuado en el semillero se trasplantaron directamente al suelo del invernadero del ensayo con una densidad de 0,25 planta/m². El trasplante se realizó el 1 de Febrero de 2012. Se trasplantaron 10 plantas por tratamiento, siendo 7 plántulas de la variedad comercial y 3 de la polinizadora. En el esquema que se presenta a continuación se refleja con mayor claridad (Figura 19).

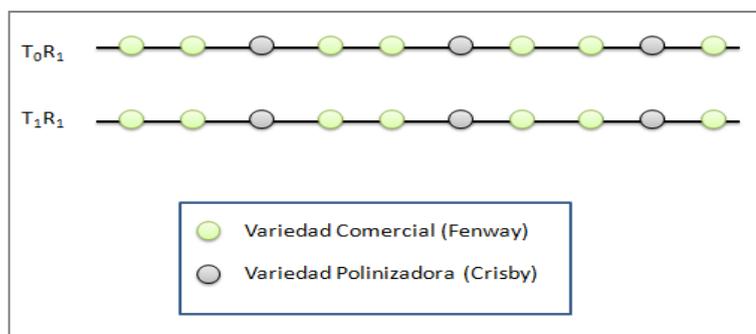


Figura 19. Detalle de distribución de las variedades plantadas.

3.4.4. Recolección

La recolección fue realizada por personal experto en el corte de sandía, de manera que únicamente se cortaron aquellos frutos que comercialmente eran aceptables.

Se realizaron dos cortes uno el 8 de Mayo de 2012 (97 D.D.T.) y el segundo el 15 de Mayo de 2012 (104 D.D.T.). D.D.T. días después del trasplante.

3.4.5. Polinización

Abejas (*Apis Mellifera*)

El 17 de Marzo se introdujo en el invernadero una colmena de abejas. Se dispuso de una colmena propiedad de un apicultor particular.

Las colmenas se situaron en la banda del invernadero, buscando un sitio fresco para la colocación de éstas y situadas en altura, sobre una caja, para evitar problemas de humedad y de invasión de hormigas dentro de las colmenas.

3.5. Riego y fertilización

El riego por goteo es el sistema más extendido en cultivo de sandía en invernadero, con aporte de agua y nutrientes en función del estado fenológico de la planta, así como del ambiente en que ésta se desarrolla (tipo de suelo, condiciones climáticas, calidad del agua de riego, etc.).

En cultivo en suelo y en enarenado el establecimiento del momento de riego vendrá dado básicamente por siguientes parámetros: tensión del agua en el suelo, tipo de suelo, evapotranspiración del cultivo, eficiencia de riego y calidad del agua de riego. En la presente tabla se proporcionan las cantidades aportadas de las aplicaciones de fertirriego para cada mes durante el ciclo del cultivo.

Tabla 4. Plan de Fertirrigación del cultivo de Sandía

Fertilizante (kg)	Febrero	Marzo	Abril	Mayo
Ácido Nítrico	8,0	18,2	30,9	0,0
Ácido Fosfórico	1,0	10,6	18,0	1,0
Nitrito Potásico	7,4	15,6	25,7	16,0
Nitrato Cálcico	5,2	9,5	16,1	9,0
Nitrato Amónico	0,7	3,8	6,4	0,0
Nutriego Mix	0,1	0,1	0,4	0,0
Sulfato Potásico	2,2	11,4	19,3	8,0
Sulfato Magnésico	0,7	1,9	3,2	1,0

3.6. Clima

El clima característico en la zona de muestreo ensayado es subdesértico, mediterráneo, cálido y seco caracterizado por ausencia de heladas y muy escasas precipitaciones.

La estación meteorológica situada en la finca UAL-ANECOOP, fue instalada por GEÓNICA S.A., en ella se realizan mediciones simultáneas de temperatura del aire y suelo, además de humedad relativa, velocidad y dirección del viento, radiación solar y presión barométrica.

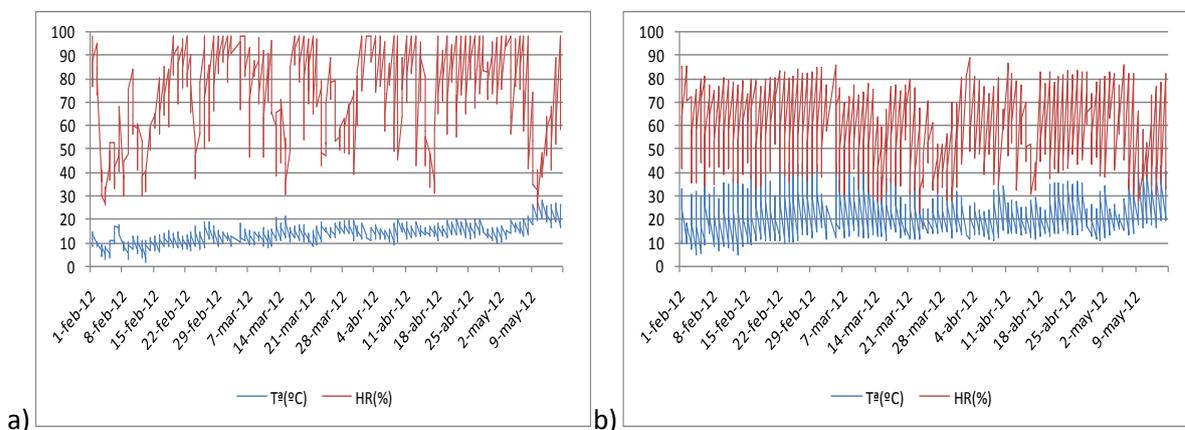


Figura 20a, b. Evolución de los valores de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (%), suministrada por la estación meteorológica UAL-ANECOOP, durante todo el ciclo de cultivo de sandía. a) Exterior del invernadero b) Interior del invernadero.

3.7. Diseño experimental y Distribución de tratamientos

El ensayo se llevo a cabo en la parcela U7 de la finca experimental UAL-Anecoop, donde se desarrolló un cultivo de sandia de ciclo de primavera, con trasplante el 1 de Febrero de 2012. Previo al trasplante se realizaron tratamientos de biodesinfección con los distintos materiales, que conformaron los siguientes **tratamientos experimentales**:

T₀: Tratamiento testigo, sin aportar materia orgánica al suelo antes del trasplante.

T₁: Aplicación de Biofence® a razón de 0,3 kg·m⁻².

T₂: Aplicación de restos vegetales del cultivo de *Brassicas oleracea* a razón de 0,8 kg·m⁻²

Se practicaron 4 repeticiones para cada tratamiento, lo que hace un total de 12 unidades experimentales virtuales (u.e.v.). Cada u.e.v. consistió en cuatro portarramales contiguos de cultivo, a uno u otro lado del pasillo central. Las unidades experimentales virtuales fueron cubiertas en un 50% de su superficie con plástico para llevar a cabo la biodesinfección con solarización (T_{0p}:Testigo solarización, T_{1p}:Biofence 0,3Kg m⁻², T_{2p}:Brassicas 0,8 Kg m²). La otra mitad de la u.e.v. no se cubrió con plástico tras aplicar la materia orgánica (T₀:Testigo sin materia orgánica, T₁:Biofence 0,3Kg m⁻², T₂:Brassicas 0,8 Kg m²). De este modo contamos con 24 unidades experimentales verdaderas de 40 m² cada una.

Las aplicaciones de materia orgánica se hicieron mediante biodesinfección con dos técnicas diferentes: Biofumigación y Biosolarización. En la Biofumigación, las materias orgánicas fueron enterradas bajo la arena y para mantener el sellado, tras un primer riego a saturación de 4 horas ($24 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}$), se aplicaron riegos de 1 hora ($6 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}$) cada 3 días durante los 30 que abarcó el tratamiento. En la Biosolarización, se aplicó sólo una vez el riego a saturación ($24 \text{ l}\cdot\text{m}^{-2}$), después de haber cubierto el suelo con un polietileno transparente. Una vez realizada la aplicación de dichos tratamientos se procedió con un cultivo de tomate de ciclo de otoño, tras el cual le sucedió el cultivo de sandía objeto de estudio

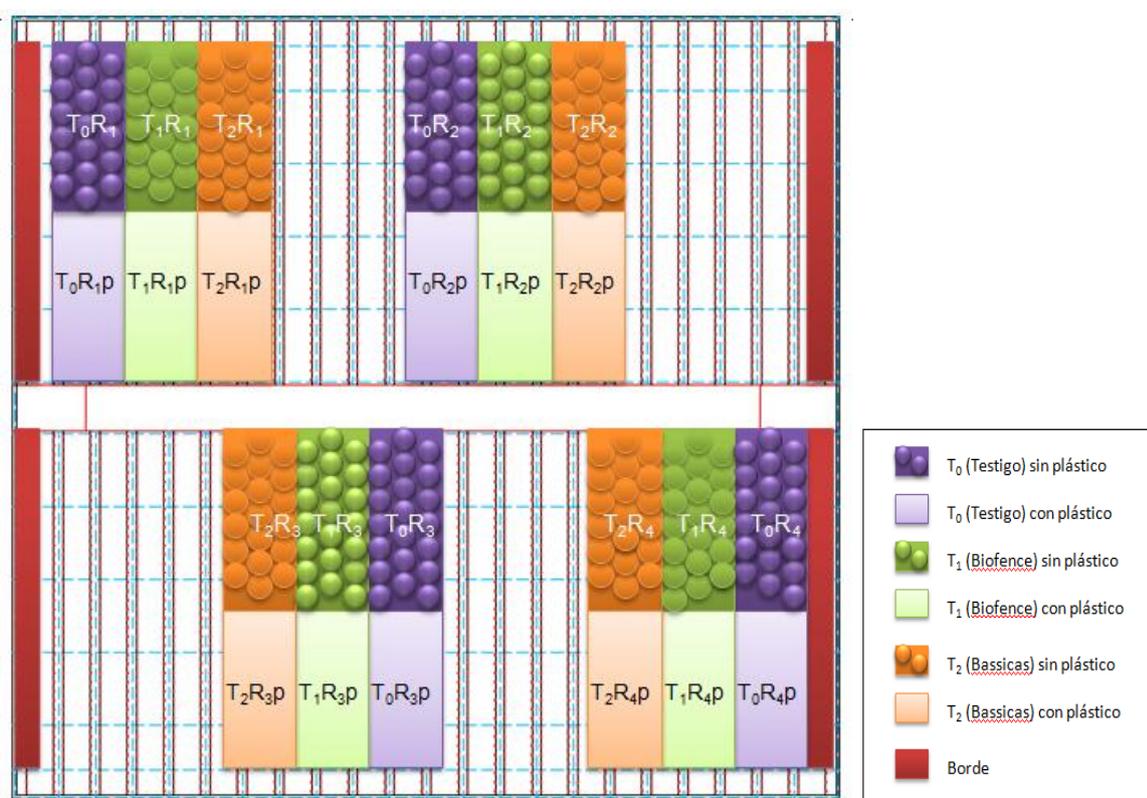


Figura 21. Distribución de los tratamientos en el invernadero

3.8. Toma de muestras

Se realizaron 4 muestreos de suelo en distintos momentos del ensayo.

M1: Previo al trasplante. Una vez realizada la biodesinfección de suelo y tras finalizar el cultivo de tomate de ciclo corto.

M2-M3: Durante el cultivo de sandía

M4: Tras finalizar el cultivo de sandía

Tabla 5. Fecha en días después del trasplante (D.D.T.) en las que se extrajeron los diferentes muestreos.

Muestreos	D.D.T.
M1	18/01/2012
M2	28
M3	70
M4	117

En cada uno de los puntos de muestreo, se retiró la capa superficial de arena, de aproximadamente 10 cm con la ayuda de una azada (Figura 22a). Las muestras de aproximadamente 500g, fueron tomadas siempre en el mismo punto, a una profundidad de 0 a 30 cm, y a 20cm del bulbo húmedo empleando para ello una barrena (Figura 22b). La desinfección de la barrena entre toma de muestra era obligatoria para evitar posibles contaminaciones en la lectura de la microbiota fúngica y bacteriana de un suelo a otro. La barrena era introducida en un barreño con agua y lejía (Figura 22d). Los muestreos se realizaron sólo en el líneo central de la unidad experimental para evitar el “efecto borde”. Las muestras eran recogidas en bolsas de plástico cada una de ellas enumerada según el tratamiento y la repetición de la que procedía para ser transportadas del invernadero al laboratorio (Figura 22c).





Figura 22. a)Detalle de la eliminación de la capa superficial de suelo con ayuda de una azada. b)Detalle de la extracción de la muestra de suelo con barrena. c)Detalle del embolsado de la muestra de suelo. d)Desinfección de la barrena.

3.8.2. Preparación de las muestras de suelo

A su llegada al laboratorio, las muestras de suelo se sometieron a un proceso de desecación al aire, a la temperatura ambiente del laboratorio. Las diferentes muestras de suelo se colocaban en bandejas de plástico forradas con papel de filtro secante. Una vez reducida la humedad de las muestras, se podían considerar como biológicamente estables (Rouxel y Bouhot, 1971), de forma que esto permitió mantenerlas almacenadas en el laboratorio durante el breve período de tiempo que se tardó en analizarlas escalonadamente. Una vez realizado el proceso de desecación, se procedió al triturado y tamizado. Siguiendo las indicaciones de Tello y Lacasa (1990), Tello *et al.* (1991), Rodríguez Molina (1996). La desecación se hizo a temperatura ambiente (Figura 23), durante un tiempo variable (entre 7 y 9 días) según la humedad de la muestra a su llegada al laboratorio.

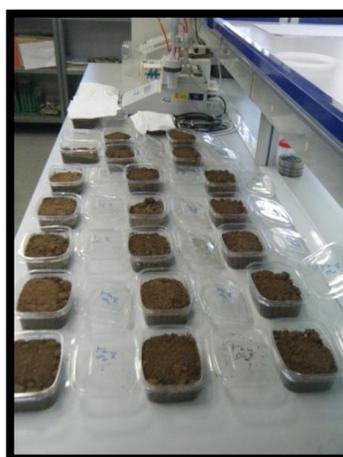


Figura 23. Secado de las muestras de suelo a temperatura ambiente.

Para la trituración, se empleó un mortero de porcelana y para el tamizado, un tamiz de 200 μ m de luz (Figura 24). La muestra primeramente se vertía en el mortero y se trituraba hasta visualizar una muestra homogénea de suelo eliminando las piedras y donde los terrones quedaban reducidos a fragmentos más pequeños. Posteriormente, eran añadidos al tamiz donde se agitaba hasta obtener una muestra considerable de suelo en polvo.

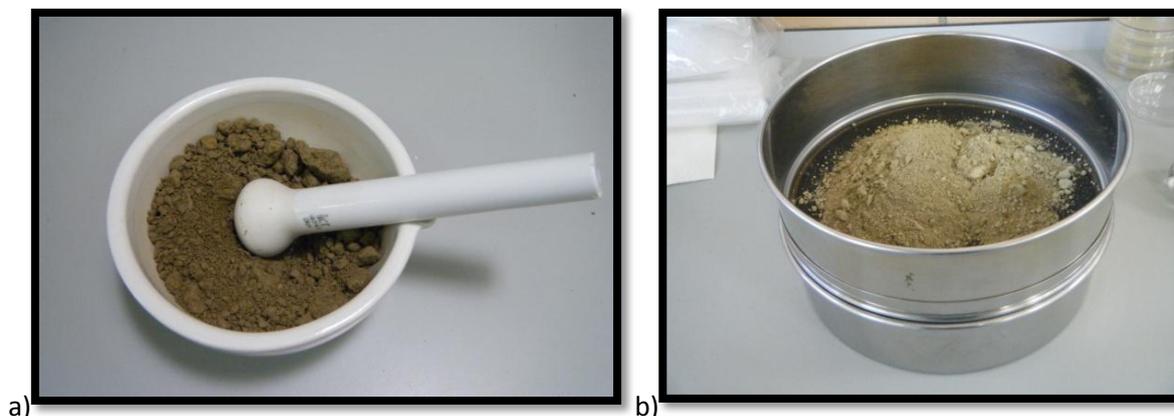


Figura 24. a) Triturado de la muestra de suelo. b) Tamizado de la muestra de suelo

Una vez utilizados, ambos instrumentos eran desinfectados entre muestra y muestra flameándolos con alcohol, tomando las precauciones necesarias que harían alcanzar la seguridad necesaria.

3.9. Metodología Analítica

Los métodos analíticos empleados para conocer la composición microbiológica de los suelos fueron (Tello *et al.*, 1991):

3.9.1. Método de las diluciones sucesivas del suelo en agua estéril

Esta técnica ha sido utilizada en el trabajo para cuantificar la microbiota total (hongos y bacterias pobladores del suelo). Consiste en elaborar una suspensión de suelo en agua estéril y a partir de ella ir confeccionando diluciones sucesivas.

En suelos desconocidos es conveniente hacer análisis previos para decidir el rango de diluciones a ensayar, según Tello *et al.*, (1991) los suelos españoles están bien representados utilizando diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} . En nuestro trabajo realizamos lectura de análisis en dilución 10^{-2} y 10^{-3} para cada uno de los tratamientos y por muestreo.

El medio de cultivo utilizado fue agar-malta acidificado. Se realizaron 10 repeticiones por muestra, para cada uno de los 4 muestreos realizados. La incubación se realizó en el laboratorio a temperatura

ambiente durante 4-7 días. Transcurrido el tiempo indicado, se procedió al conteo de las U.F.C. totales (Z) presentes en cada repetición. Elegida, en este caso, la dilución 10^{-3} , los resultados se expresan, tanto para biofumigación como para biosolarización, como $Z \times 10^3$ U.F.C. $\cdot g^{-1}$ de suelo seco.

A continuación se describe la aplicación de dicha técnica:

- Cada muestra de suelo de 10 g se añade a un matraz Erlenmeyer con 90 ml de agua estéril. Se agita manualmente para homogeneizar la suspensión.
- Se toman con una pipeta estéril 5 ml que son incorporados en otro matraz con 45 ml de agua estéril obteniendo la dilución de rango 10^{-2} .
- De la dilución 10^{-2} se toman 5 ml y se añaden a otro matraz con 45 ml de agua estéril, obteniendo ahora la dilución de rango 10^{-3} .



Figura 25. Dilución del suelo inicial para la realización de sucesivas diluciones de las distintas muestras de suelo.



a)



b)



c)

Figura 26. Procedimiento para la obtención de diluciones sucesivas. a) Incorporación de los 5ml para obtener la dilución 10^{-2} . b) Extracción de 5ml de la dilución 10^{-2} . c) Incorporación de los 5ml procedentes de la dilución 10^{-2} sobre matraz de 45ml para la obtención de 10^{-3} .

Una vez realizadas las diluciones y elegida aquella cuyo rango nos aportó una información completa del estudio de la microbiota, las muestras obtenidas en cada uno de los muestreos eran procesadas. Finalmente, se trabajó con ésta última dilución (10^{-3}), debido a que análisis preliminares revelaron que las muestras de suelo quedaban así bien representadas. Se analizaron 10 ml repartidos en 10 placas de Petri a razón de 1ml-por placa usando para ello una pipeta estéril.



Figura 27. Incorporación de 10ml pertenecientes a la dilución 10-3 a la placa Petri.

A continuación, se añaden a cada placa de Petri 10 ml de medio agar-malta acidificado (Figura 28 a,b). Por último, con unos suaves movimientos se uniformiza la muestra de suelo en el volumen agregado de medio de cultivo.

La incubación se realizó en el laboratorio a temperatura ambiente durante 5-7 días. Transcurrido el tiempo indicado, se procedió al conteo de las colonias.

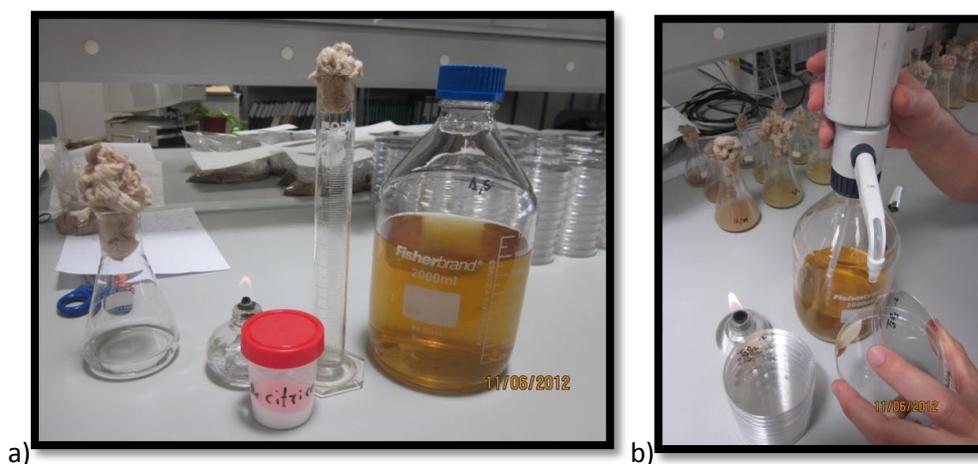


Figura 28.a) Materiales utilizados para la adición del medio nutritivo. b) Adición del medio nutritivo Agar-Malta acidificado.

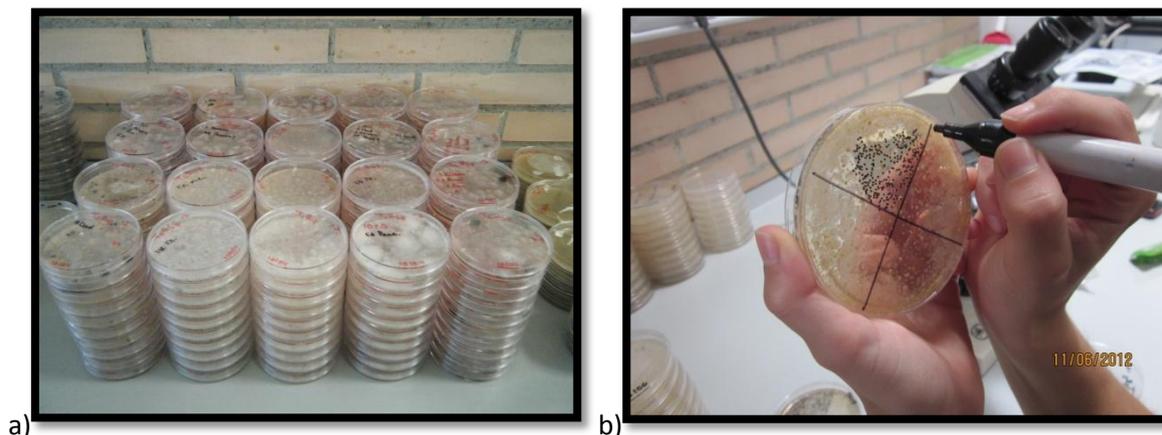


Figura 29. a) Muestras de suelo incubadas a temperatura ambiente, transcurrido el periodo de 5-7 días. b) Conteo de la microbiota bacteriana edáfica.

Medio de cultivo Agar- Extracto de Malta acidificado.

Componentes del medio Agar-Malta

- Extracto de Malta.....10 gramos
- Agar.....10 gramos
- Agua.....1 litro

Se esteriliza en autoclave a 121 °C durante 30 minutos.

Una vez preparado el medio, antes de su vertido a las placas con la muestra del tratamiento diluida, este es acidificado mediante el aporte de 0,25 g de ácido cítrico por 1000 ml de agar-malta, cuando se ha enfriado a 42-43 °C.

3.9.2. Método de las trampas vegetales con pétalos de clavel

El método de las Tasas de Contaminación descrito por Ricci (1974) basado en el empleo de pétalos inmaduros de clavel como trampas o cebos vegetales fue el empleado para evaluar la presencia de oomicetos (Tello *et al.*, 1991). El proceso consiste en la incorporación de una porción de suelo, agua para evitar la colonización de otros patógenos incapaces de generar zoosporas, y las trampas a una placa petri. Los pasos a seguir se detallan a continuación:

- Se incorpora a la placa Petri pequeñas porciones de muestra de suelo con una cuchara, previamente desinfectada. Durante la manipulación de las distintas muestras, la cuchara es flameada con alcohol.
- Se vierte en la placa una cantidad de agua suficiente para cubrir la muestra de suelo adicionada.

- Posteriormente en cada placa de Petri se depositan 5 pétalos de clavel inmaduros. La altura de la suspensión en la que flotan los pétalos no debe ser superior a los 10 mm debido a la dificultad de las zoosporas para alcanzar las trampas vegetales.

Se realizaron 5 repeticiones por muestra para cada uno de los 4 muestreos realizados, por lo que, en total, obtuvimos 120 placas en cada muestreo. Cada una de las repeticiones contenía 5 pétalos de clavel. La incubación se realizó en el laboratorio a temperatura ambiente durante 4-5 días. Transcurrido el tiempo indicado, se procedió a la lectura, determinando presencia o ausencia de oomicetos en cada una de las réplicas, para ello se consideró presencia cuando se encontraron oomicetos en al menos uno de los pétalos. Los resultados se expresan, para cada uno de los 4 muestreos realizados, en % de repeticiones con presencia de oomicetos·técnica de desinfección⁻¹.

Procedimiento del método de las trampas de clavel a través de la visualización de imágenes:



Figura 30. a)Adición de muestras de suelo a placa Petri. b) Vertido de agua sobre la muestra de suelo.



Figura 31.a)Capullos de clavel para la extracción de pétalos inmaduros b)Extracción de petalos de clavel inmaduros.



Figura 32. a) Introducción de los 5 pétalos de clavel inmaduros por placa. b) Incubación de las muestras de suelo a temperatura ambiente para su posterior análisis.

3.10. Análisis estadístico

Con el fin de testar diferencias significativas en las variables analizadas (UFC de hongos, UFC de bacterias y % presencia de oomicetos) entre los distintos tratamientos aplicados (T_0 , T_{0p} , T_1 , T_{1p} , T_2 y T_{2p}) y para cada uno de los momentos de muestreo (M1, M2, M3 Y M4), se aplicó un test no paramétrico (Kruskal Wallis), dado que no se encontró una transformada con la que se cumplieran las asunciones de normalidad y homocedasticidad requeridas por los tests paramétricos (debido a la elevada variabilidad de los valores de las variables estudiadas como efecto de la heterogeneidad que estas variables presentan de forma natural en el suelo).

Para la realización del análisis estadístico de todos los datos obtenidos se utilizó el paquete informático STATGRAPHICS V 5.1 para Windows.

4. Resultados y Discusión

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente apartado se describen y discuten todos los resultados obtenidos procedentes de los muestreos realizados durante el ciclo de cultivo de sandía en un suelo arenado. Previamente, el suelo fue tratado mediante diferentes técnicas de biodesinfección entre ellas Biofumigación y Biosolarización seguido por un cultivo de tomate de ciclo corto.

La literatura especializada no abunda en trabajos sobre la microbiota fúngica, bacteriana y oomicetos que habita un suelo tal y como aquí se ha planteado. Son más frecuentes las investigaciones sobre la densidad del inóculo, y sus variaciones, de un microorganismo fitopatógeno. Muchos de estos estudios tratan hacer válido que a mayor densidad del patógeno en el suelo mayor severidad de la enfermedad ocasiona. Esta forma de razonar simplifica extraordinariamente el sistema y no son tenidos en cuenta aspectos como la capacidad saprofita del parásito, o las propiedades intrínsecas del mismo microorganismo cuando se ha alimentado de un tipo u otro de materia, fundamento que sostendría los beneficios de la antigua recomendación de rotar el cultivo para disminuir la acción parasitaria del microorganismo que origina la enfermedad. O, el efecto de las condiciones del “ambiente suelo” en la expresión de la enfermedad, o la “capacidad de acogida” de un suelo y las propiedades “antagonistas” de algunos de sus habitantes para admitir o no a un extraño en su medio. Aspectos todos ellos, que muestran la complejidad del “ambiente suelo”.

Una de las aportaciones más interesantes de los estudios con microorganismos edáficos ha sido la resistencia inducida en las plantas por la presencia de microorganismos no causantes de enfermedad (como ejemplo algunos géneros de bacterias: *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, y otros), pero que siempre son estudiadas separadas del “ambiente suelo”. En cambio, son escasos los estudios de la microbiota no patógena de un suelo tratando de esclarecer su papel

Para comprender e interpretar mejor los resultados de este trabajo, no sólo debe tenerse en cuenta la complejidad atribuida al suelo y anteriormente expuesta, también hay que considerar la imperfección de las técnicas analíticas disponibles para la microbiología del suelo, imperfección secundada por la propia experiencia y por el trabajo de Martínez *et al.* (2009), que estudia la ecología de la microbiota fúngica de los suelos de los invernaderos de pimiento del campo de Cartagena, tratándose éste del único estudio en la línea del presente trabajo hasta donde nuestro conocimiento alcanza. Así, muestra de la enorme complejidad de la materia considerada, de ese trabajo se concluyen distintos comportamientos de la microbiota fúngica en diferentes invernaderos, así como, en diferentes años para un mismo invernadero, aún tratándose del mismo suelo con el mismo cultivo, y en el que se han practicado similares tratamientos de desinfección. Asimismo, Torsvik *et al.*

(1990) estimo que en 1 g de suelo hay 4.000 bacterias diferentes basándose en la asociación ADN-ADN. Aproximadamente el 1% de la población bacteriana del suelo puede ser cultivado mediante prácticas de laboratorio. De este modo, no se conoce si este 1% es representativo de la población total bacteriana. Existe una estimación de 1.500.000 de especies de hongos en el mundo (Giller *et al.*, 1997) pero al igual que las bacterias, muchos hongos no pueden ser cultivados a través de los métodos estándar de laboratorio, en los que los medios de cultivo empleados limitan la expresión de la microbiota presente en las muestras de suelo, esencia de la competición por el sustrato nutritivo, y en definitiva por el subsistema (Thorn, 1997; Van Elsas *et al.*, 2000).

Por ello, debemos añadir la incertidumbre proveniente del análisis empleado y la representación de los datos obtenidos. Rouxel y Bouhot (1971) estimaron la precisión del método analítico mediante la comparación de desviaciones típicas de numerosas muestras obtenidas a partir de suelos de diversas procedencias. De esta comparación, se concluyó que las fluctuaciones de las desviaciones típicas son función del número de propágulos de un microorganismo por gramo de suelo, es decir, cuanto mayor es el número de unidades formadoras de colonias, menores son las fluctuaciones de la desviación típica y, por tanto, mayor es la precisión del método analítico. Esta conclusión, fue además reafirmada por Rodríguez Molina (1996) quien trató de ajustar la técnica analítica usada para los hongos del género *Fusarium* spp. aislados del suelo desde varias vertientes: *variabilidad de los resultados dependiendo de la dilución de la muestra; variabilidad de los resultados en función del tiempo de almacenamiento de la muestra; precisión, repetibilidad y reproducibilidad del método analítico; y variabilidad de las poblaciones de Fusarium en el suelo y representatividad del muestreo.*

La autora examinó de forma intensa una calicata de 1x1x0,80m, diferenciando 4 horizontes en cada una de sus caras de 10 cm de profundidad. Adicionalmente, se marcaron 4 horizontes más en una de sus caras. Las muestras se tomaron de la línea media de cada horizonte, recogiendo de 35-45g de tierra sustraídos de 10 puntos equidistantes entre sí. Los resultados obtenidos determinaron que “las conclusiones y generalizaciones de los muestreos de suelo deben ser realizados con precaución, ya que el muestreo intenso de un espacio pequeño de suelo muestra que la variabilidad que existe en el medio es tal, que en realidad una muestra solo se representa a sí misma”.

El método de la técnica de las diluciones sucesivas ha sido objeto de muchas críticas por sus limitaciones. A pesar de ello, es considerado uno de los métodos más útiles y productivos para estudiar algunos aspectos de la microbiota del suelo. Es, tal vez, el más útil para observar los cambios debidos a un tratamiento de incorporación de materia orgánica al suelo (Burgess, 1960). Una de las limitaciones que señaló Burgess, es que los microorganismos aislados no son todos los que se supone que hay en el suelo. Solo se aísla una parte de la microbiota fúngica, que vendrá determinada por el

medio de cultivo elegido (Brierley, 1927). Incluso, el método no permite precisar la unidad fisiológica o morfológica que origina la colonia. Para el caso de las Bacterias, ha sido muy criticado el razonamiento de si cada colonia procede de una sola célula, mientras que para los hongos esta afirmación no es aceptable, ya que las hifas crecen y se ramifican en el suelo, tardando en morir y además esporulan. La mayoría de las colonias de hongos proceden de esporas y no de fragmentos miceliares (Loper *et al.*, 1984; Lemanceau *et al.*, 1988). El conjunto de las limitaciones del método analítico empleado tendrán repercusiones importantes a la hora de separar a los hongos que son verdaderos habitantes del suelo de los colonizadores transitorios.

Por tanto, en este estudio llama la atención los elevados errores típicos asociados a las estimas realizadas, lo que confirma la poca precisión y el carácter fundamentalmente cualitativo de las técnicas empleadas, que nos proporcionan fundamentalmente información sobre la presencia o ausencia de determinados microorganismos. Los errores cometidos con la técnica empleada son elevados porque en ella, además, se puede producir una sobreestimación. Un ejemplo de ello sería la sobreestimación de hongos debido a la fragmentación del micelio y/o dispersión de esporas, o por el contrario, puede existir una posible interacción entre microorganismos debido a la producción de antibióticos y/u otros diferentes mecanismos de antagonismo (Parkinson *et al.*, 1971; Wollum, 1982). Esto obliga a tomar con precauciones estos resultados a pesar de que cada muestra ha sido analizada en 10 placas de petri para cada una de las 4 repeticiones realizadas.

4.1. Microbiota total presente en las enmiendas orgánicas empleadas

Previo a los tratamientos de biodesinfección, se realizaron análisis para conocer la microbiota total presente en las enmiendas orgánicas aplicadas al suelo. El análisis de la microbiota total se realizó por recuento en placa de las UFC presentes en cada materia orgánica. La tabla 6 muestra los resultados de las poblaciones totales de hongos y bacterias, valores tanto para el caso de los hongos ($0,5-6,0 \times 10^2$ UFC) como de las bacterias ($0,1-23,0 \times 10^2$ UFC) son muy pobres si se comparan con los obtenidos por Tello y Lacasa (1990) en estiércoles producidos en Almería (hongos: $397-3820 \times 10^4$ UFC) y por Diánez (2005) en el compost de orujo de vid (hongos: $219,89-526,32 \times 10^6$ UFC; bacterias: $601,76-1470,15 \times 10^6$ UFC).

En el caso de pellets de *Brassicas*, los hongos aislados pertenecían exclusivamente al género *Penicillium* spp.. Así mismo, en el trabajo de Tello y Lacasa los hongos aislados pertenecen principalmente a los géneros *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp, *Penicillium* spp, y *Fusarium* spp., y

en el de Diánez (2005), los géneros de hongos aislados pertenecen a los géneros *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, *Fusarium* spp y *Rhizopus* spp.

Tabla 6. Poblaciones de hongos y bacterias en las materias orgánicas empleadas en los tratamientos de biodesinfección, expresado en $\times 10^2$ UFC·g⁻¹ suelo seco.

Materia orgánica	Hongos (UFC)	Bacterias (UFC)
Biofence®	0,80±0,79	0,10±0,32
Brassicas	--	--

-- no se realizó análisis

4.2. Cuantificación e identificación de la microbiota fúngica

4.2.1. Cuantificación de la densidad de población fúngica en función de los tratamientos.

La tabla 7 muestra los valores de UFC de hongos obtenidos antes del trasplante y durante todo el ciclo de cultivo: 28, 70, 117 en días después de trasplante (D.D.T.), en función de las distintas materias orgánicas empleadas y aplicadas mediante biofumigación y biosolarización.

Antes del trasplante y después del ciclo de cultivo de tomate (M1)

Las muestras de suelo analizadas no presentan diferencias significativas entre tratamientos (p-valor > 0,05, mediante el test de Kruskal-Wallis) aplicados tanto en biofumigación como en biosolarización.

Durante el cultivo

- **M2 (28 D.D.T)**

En biofumigación, la densidad de población de la microbiota fúngica, una vez realizado el trasplante, presenta diferencias significativas entre tratamientos (p-valor < 0,05 mediante el test de Kruskal-Wallis). El recuento de UFC·g⁻¹ de suelo seco obtenido para T₁=Biofence® presenta una mayor densidad de población fúngica si se compara con los resultados registrados en M1, mientras que la densidad de población fúngica disminuye levemente para T₂=Brassicas.

En Biosolarización, la densidad de población de la microbiota fúngica presenta diferencias significativas entre tratamientos (p-valor < 0,05 mediante el test de Kruskal-Wallis). Los datos obtenidos de las muestras analizadas sobre la microbiota fúngica total revelan un comportamiento similar al ocurrido para los diferentes tratamientos aplicados al suelo en biofumigación. La densidad

de población fúngica aumenta tanto para el suelo con aportes de materia orgánica como para el testigo sí se compara con los datos registrados en M1. Sin embargo, el recuento de UFC·g⁻¹ de suelo seco obtenido para T₁=Biofence® y T₂=*Brassicas* es bastante inferior al obtenido en T₀=Testigo.

- **M3 (70 D.D.T.)**

En biofumigación, la densidad de población de la microbiota fúngica total presenta diferencias significativas entre tratamientos (p-valor < 0,05 mediante el test de Kruskal-Wallis). La densidad de población fúngica sufre una disminución para los tratamientos T₀=Testigo y T₁=Biofence® obteniendo resultados en el recuento de UFC·g⁻¹ de suelo seco similares a M1, no obstante, para el tratamiento T₂=*Brassicas* aumenta si se compara con los datos obtenidos en M2 (28 D.D.T.).

En Biosolarización, la densidad de población de la microbiota fúngica total presenta diferencias significativas entre tratamientos (p-valor < 0,05 mediante el test de Kruskal-Wallis). La densidad de población de la microbiota fúngica de los diferentes tratamientos aplicados al suelo mediante biosolarización en M3 sufre una disminución para los tratamientos y el testigo con respecto a M2, siendo T₀=Testigo el suelo con el mayor valor de UFC·g⁻¹ de suelo seco.

Al finalizar el cultivo

- **M4 (D.D.T.)**

En biofumigación las muestras de suelo analizadas no presentan diferencias significativas entre tratamientos (p-valor > 0,05 mediante el test de Kruskal-Wallis). La densidad de población fúngica sufre un aumento para T₁=Biofence®, T₂=*Brassicas* y T₀=Testigo sí se compara con los resultados obtenidos en M3.

En biosolarización las muestras de suelo analizadas presentan diferencias significativas entre tratamientos (p-valor < 0,05 mediante el test de Kruskal-Wallis). Los datos obtenidos de las muestras analizadas sobre la microbiota fúngica total revelan un comportamiento similar al ocurrido para los diferentes tratamientos aplicados al suelo en biofumigación. La densidad de población fúngica aumenta tanto para el suelo con aportes de materia orgánica como para el testigo sí se compara con los datos registrados en M3.

Tabla 7. Efecto de las distintas materias orgánicas aplicadas mediante biofumigación y biosolarización sobre la densidad de población fúngica, valores (media \pm desviación estándar) expresados en UFC·g⁻¹ de suelo seco antes del trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.)

Hongos (x10 ³ UFC)				
Tratamientos	M1 (Antes)		M2 (28 D.D.T.)	
	Biofumigación	Biosolarización	Biofumigación	Biosolarización
T ₀ = Testigo	0,53±0,96	0,93±1,73	47,35±79,96	20,50±25,60
T ₁ =Biofence® 0,3 Kg·m ⁻²	1,08±1,62	2,70±4,52	17,05±18,32	5,75±4,35
T ₂ =Brassicas 0,8 Kg·m ⁻²	1,10±1,57	0,95±1,32	0,98±1,67	3,43±2,46
<i>p</i> -valor	0,0960283	0,439857	3,95E-09	2,42E-02
Tratamientos	M3 (70 D.D.T.)		M4 (117 D.D.T.)	
	Biofumigación	Biosolarización	Biofumigación	Biosolarización
T ₀ = Testigo	1,28±1,38	2,13±2,17	15,80±11,93	21,3±33,55
T ₁ =Biofence® 0,3 Kg·m ⁻²	2,08±2,23	0,60±0,81	12,70±14,50	29,53±32,54
T ₂ =Brassicas 0,8 Kg·m ⁻²	4,35±3,36	1,25± 1,45	17,43±21,94	18,98±20,03
<i>p</i> -valor	4,99649E-05	0,0073589	0,0810193	0,0447192

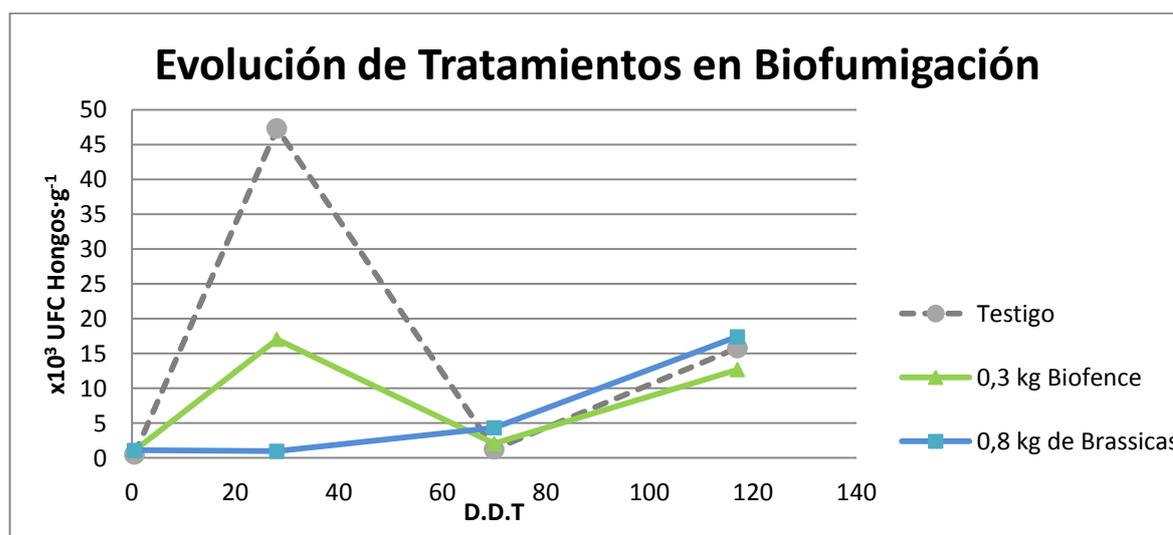


Figura 33. Densidad de población fúngica total según distintas materias orgánicas aplicadas mediante biofumigación, expresadas en x10³ UFC·g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo en biofumigación: testigo sin materia orgánica.

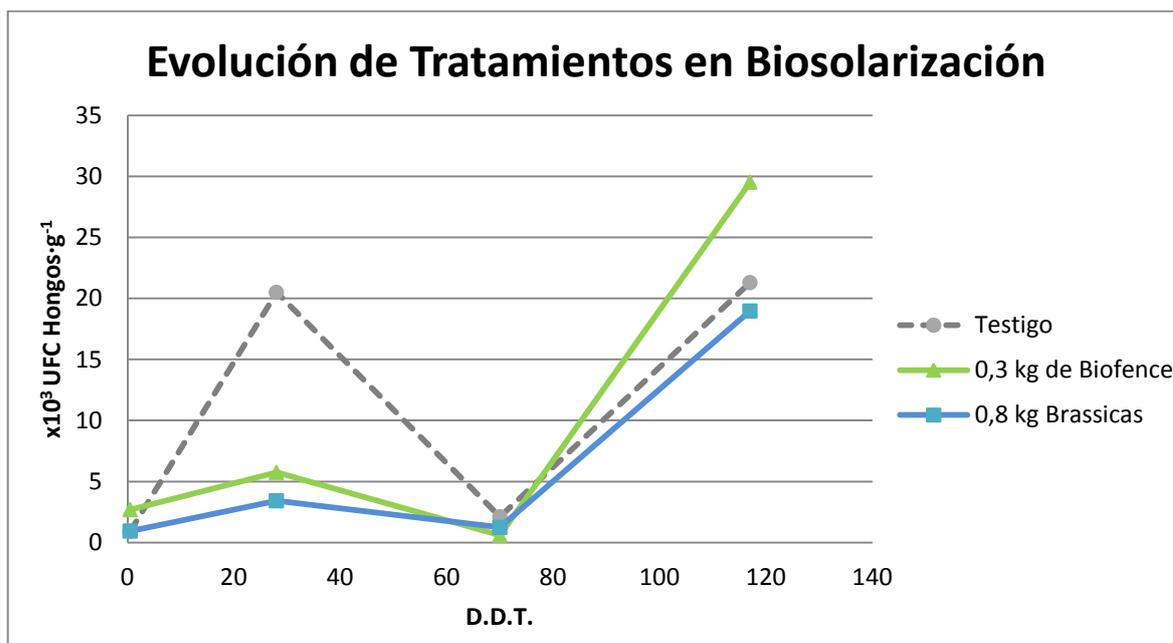


Figura 34. Densidad de población fúngica total según distintas materias orgánicas aplicadas mediante biosolarización, expresadas en $\times 10^3$ UFC·g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo en biofumigación: testigo sin materia orgánica.

4.2.2. Cuantificación de la densidad de población fúngica en función de las distintas biodesinfecciones.

La tabla 8 muestra las densidades de población fúngicas registradas antes del trasplante y durante todo el ciclo de cultivo de la sandía: 28, 70, 117 en días después del trasplante (D.D.T.) en función de las diferentes desinfecciones (Testigo: Testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + Brassicas); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + Brassicas) + solarización).

Antes del trasplante y tras el cultivo de tomate (M1)

Las muestras de suelo presentan diferencias significativas entre desinfecciones (p -valor < 0,05 mediante el test de Kruskal-Wallis) (Tabla 8). En M1, suelo sin cultivo, los valores de densidad de población de bacterias para Biosolarización son muy próximos a cero siendo similares a los valores obtenidos para el Testigo. Por el contrario, los análisis realizados sobre el suelo desinfectado mediante Solarización sustenta el mayor recuento en UFC·g⁻¹ de suelo seco para suelo desnudo.

Durante el ciclo de cultivo**• M2 (28 D.D.T)**

Las muestras de suelo analizadas, a los 28 D.D.T., muestran diferencias significativas entre desinfecciones (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis), obteniéndose valores de densidad de población similares tanto en Biofumigación como Biosolarización siendo semejantes a su vez al Testigo (Tabla 8). De los resultados obtenidos, si se les compara con M1, podría decirse que las bacterias tanto en Biofumigación como en Biosolarización, presentan una tendencia generalizada a los 28 D.D.T. presentando valores de densidad similares. A excepción de lo que ocurre en Solarización, donde la densidad de población de bacterias disminuye obteniendo valores inferiores a los registrados en las distintas desinfecciones y en el testigo (Figura 35).

• M3 (70 D.D.T)

Las muestras de suelo analizadas, en M3, muestran diferencias significativas entre desinfecciones (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis), obteniéndose valores en la densidad de población de bacterias muy superiores a las demás desinfecciones en el caso de biofumigación ($355,71 \times 10^3$ UFC·g⁻¹ de suelo seco).

Para todas las desinfecciones aumenta la densidad de población de bacterias con respecto a los 28 D.D.T. La razón de este aumento en la presencia del número de bacterias puede ser debido al estado fenológico de la planta así como la disponibilidad de fuentes nutritivas.

Al finalizar el cultivo**• M4 (117 D.D.T)**

Las muestras de suelo analizadas, en M4, muestran diferencias significativas entre desinfecciones (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis), manteniéndose valores en la densidad de población de bacterias muy superiores a las demás desinfecciones para el caso de biofumigación ($368,18 \times 10^3$ UFC·g⁻¹ de suelo seco) siendo el valor más alto registrado durante todo el ciclo de cultivo.

La densidad de población de bacterias aumenta para todas las desinfecciones realizadas y los testigos con respecto a los 28 D.D.T.

Tabla 8. Efecto de distintas desinfecciones sobre la densidad de población fúngica, valores (media \pm desviación estándar) expresados en $\times 10^3$ UFC \cdot g $^{-1}$, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence $^{\circledR}$ + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence $^{\circledR}$ + *Brassicas*) + solarización.

Hongos ($\times 10^3$ UFC)				
Desinfecciones	M1 (Antes)	M2 (28 D.D.T.)	M3 (70 D.D.T.)	M4 (117 D.D.T.)
Testigo (T ₀)	0,53 \pm 0,96	47,35 \pm 79,96	1,28 \pm 1,38	15,80 \pm 11,93
Solarización (T _{0p})	0,93 \pm 1,73	20,50 \pm 25,60	2,13 \pm 2,17	21,30 \pm 33,55
Biofumigación (T ₁ +T ₂)	1,09 \pm 1,58	9,01 \pm 15,25	3,21 \pm 3,06	15,06 \pm 18,63
Biosolarización (T _{1p} + T _{2p})	1,83 \pm 3,43	4,59 \pm 3,70	0,93 \pm 1,21	24,25 \pm 27,37
<i>p</i> -valor	0,121114	0,00570737	2,27E-06	8,44E-03

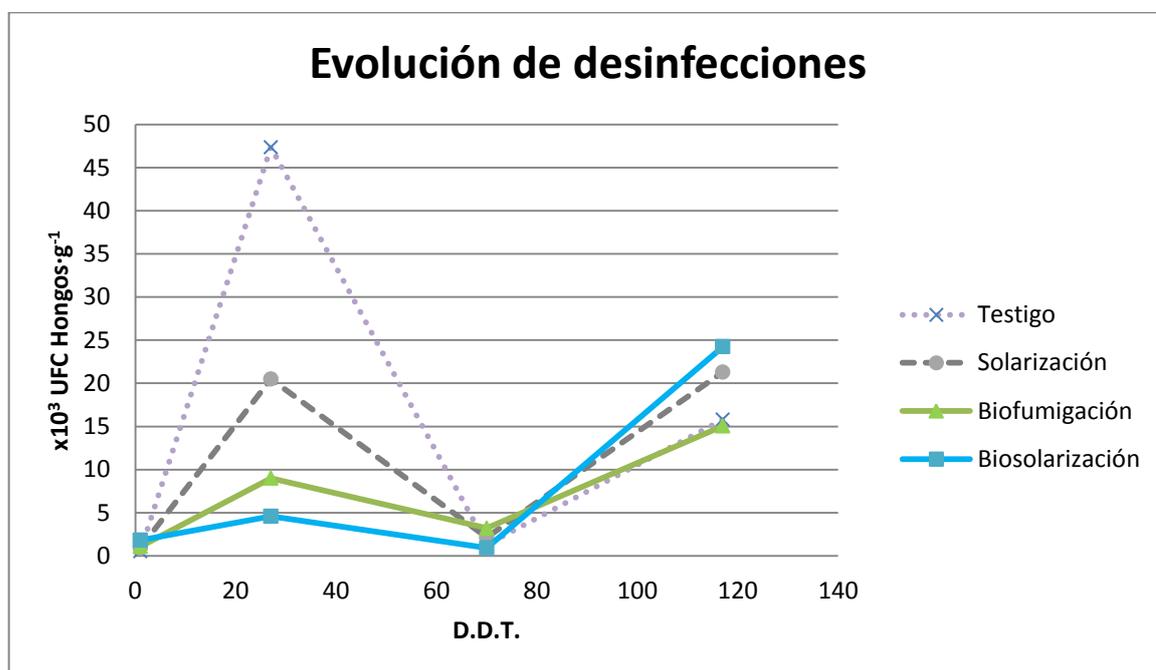


Figura 35. Densidad de población fúngica según distintas desinfecciones, expresadas en $\times 10^3$ UFC \cdot g $^{-1}$, antes, antes del trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después de trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence $^{\circledR}$ + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence $^{\circledR}$ + *Brassicas*) + solarización.

4.2.3. Resumen

Tras los tratamientos de biodesinfección realizados en los suelos analizados, antes del cultivo de tomate y posterior cultivo de sandía contemplado en este trabajo, ambas técnicas de biodesinfección (Biofumigación y biosolarización) tuvieron un efecto desinfectante frente a hongos (Marín-Guirao *et al.*, 2012). El mismo trabajo sugiere que el suelo arenado actúa como desinfectante del suelo aun sin aporte de materia orgánica puesto que en suelos donde no se adicione materia orgánica, se observó una disminución de densidad de población fúngica.

En Biofumigación, durante el periodo de transición entre el cultivo de tomate y el cultivo de sandía, el suelo soporta una densidad de población fúngica mínima para ambos tratamientos con aporte de materia orgánica no existiendo diferencias significativas entre tratamientos. La entrada del cultivo de sandía repercute en la densidad de población fúngica, observándose un aumento en los suelos tratados con Biofence® si se compara con los suelos tratados con *Brassicas*. Sin embargo, en los dos últimos muestreos se observa un cambio en densidad de población siendo mayor en los suelos tratados con *Brassicas* que los suelos tratados con Biofence®. Al final del cultivo, la densidad de población fúngica aumenta para todas las muestras de suelo no presentando diferencias significativas.

En Biosolarización, los suelos tratados con Biofence® sustentan densidades de población fúngica superior a los suelos tratados con *Brassicas* para todos los muestreos excepto a los 70 D.D.T. Al hilo de los resultados obtenidos, el comportamiento de la microbiota fúngica en suelos tratados con Biofence® presenta una tendencia general donde su población incrementa en todos los muestreos excepto para M3 (70 D.D.T.) independientemente del método de biodesinfección de suelo. En cambio, la microbiota fúngica presenta un comportamiento desigual en los suelos tratados con *Brassicas* dependiendo del tipo de biodesinfección realizado (biofumigación o biosolarización).

En general, la población fúngica presenta un comportamiento similar para todos los muestreos realizados en los suelos Testigo, Solarizados, Biofumigados y Biosolarizados. La densidad de población incrementa su valor tras el trasplante, para posteriormente disminuir y volver a aumentar al final del cultivo. Sin embargo, existen diferencias significativas del valor de esas densidades entre las distintas biodesinfecciones aplicadas al suelo y el Testigo. En los suelos tratados, la alteración en la densidad de población fúngica por la entrada del cultivo de sandía es más leve en comparación con el Testigo. Los suelos biofumigados sustentaron los mayores valores en la densidad de población fúngica, mientras que los suelos tratados mediante Solarización soportaron los valores más bajos. No hay ninguna diferencia en cuanto a densidad fúngica, si se aplica enmienda orgánica como si no,

debido a la ausencia de plástico que retenga los gases producidos por la descomposición del material vegetal.

Al igual que en el presente estudio, los resultados obtenidos durante el cultivo de tomate, no permitieron una interpretación de las variaciones de la microbiota fúngica a lo largo del periodo considerado. No se encontró relación ni con el régimen de riego ni abono ni otras prácticas.

La entrada de plantas al sistema supone una variable de cambio que repercute en la población microbiológica del suelo. Parkinson (1957), Jackson *et al.* (1960) y Parkinson *et al.* (1964) afirmaron que tras el trasplante durante las primeras semanas, la raíz podía ser colonizada por un amplio rango de hongos para, posteriormente, dejar paso a otra microbiota más estable y típica. La planta es la que tiene asociados determinados géneros de hongos, que se repiten, independientemente de los tratamientos efectuados y siempre aparecen para unos suelos de similares características (Garbeva *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2009).

Las enmiendas orgánicas incrementan la actividad de microbios antagonistas, la competición contra patógenos por los recursos nutritivos, liberan compuestos fungitóxicos durante la descomposición de la materia orgánica, e incluso, pueden inducir resistencia en la planta hospedadora (Bonanomi *et al.*, 2007). Así como lo refieren García *et al.* (2004), la incorporación de materia orgánica aportada al suelo influye de manera significativa en la densidad de población microbiológica incrementándose su actividad. Por el contrario, el hecho de someter la enmienda orgánica aplicada al suelo a un proceso de biosolarización se traduce en una menor viabilidad para muchas esporas de distintas especies y/o géneros fúngicos (Martínez *et al.*, 2009).

La supresión de patógenos del suelo mediante métodos de biofumigación es atribuida a otros factores además de la liberación de isotiocianatos (Berbegal *et al.*, 2008). En esta línea, Motisi *et al.* (2010) concluye que la eficacia en el control de patógenos a través del aporte de tejidos de *Brassicas* depende de varios factores (cultivo, patógeno, propiedades del suelo, clima, etc.), además de por el hecho de añadir materia orgánica fresca (Ochiai *et al.*, 2008; Omirou *et al.*, 2011). La hidrólisis enzimática derivada de los productos de glucosinolatos podría no solo actuar como fungicidas sino también como compuesto fungistático limitando el desarrollo y actividad de las poblaciones de hongos (Manici *et al.*, 2000).

Burges (1960) afirmó que tras la realización de una desinfección química del suelo la microbiota fúngica posee el mismo patrón de comportamiento, produciéndose inicialmente (tras la desinfección) un desmoronamiento de la población del suelo, seguido de un gran aumento en la misma hallándose densidades de población superiores a la de partida. Más tarde, la densidad sufre

un descenso gradual para volver a alcanzar el número que tenía al principio. Este modelo de comportamiento es observable en los análisis realizados, salvo con la distinción de que al final del cultivo el nivel de densidad de población fúngica no disminuye sino que sus valores se incrementan. Martínez *et al.*, (2011) durante el estudio del efecto de diferentes métodos de desinfección de suelo (Biosolarización, Biofumigación, Solarización y desinfección con Bromuro de Metilo) en un monocultivo de pimiento, observaron un incremento poblacional en la densidad de *Fusarium* spp. al final del cultivo, relacionándolo con una posible “fatiga del suelo”. Estos autores afirman que podría ser un indicador del efecto acumulativo provocado por la ausencia de fumigación. Así lo refieren Tello y Lacasa (1990) al estudiar la micoflora, y en particular las especies pertenecientes al género *Fusarium* spp., en distintos suelos con cultivo de clavel. El efecto rizosférico aumentó mensualmente hasta el día 100 después del trasplante atribuyéndolo a la creciente actividad de las plantas.

4.2.4. Identificación y cuantificación de los géneros de hongos aislados de los distintos tratamientos de desinfección aplicadas al suelo.

La diversidad de población de la flora fúngica aislada de las muestras de suelo estudiadas para los diferentes tratamientos de biodesinfección del suelo y el testigo se puede observar en la tabla 9.

Los géneros más frecuentemente aislados en los muestreos realizados a lo largo del cultivo (Cuadro_) fueron *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp. y *Penicillium* spp. con predominio de *Aspergillus* spp. Mientras que, los géneros de hongos aislados de manera continúa durante el cultivo de tomate fueron los anteriormente mencionados a excepción de *Acremonium* spp. que estuvo ausente en todas las muestras de suelo analizadas. El trabajo de Martínez *et al.*, (2009) tras realizar biofumigación y biosolarización, en un suelo no arenado durante el ciclo de cultivo de pimiento concluyó que los géneros más frecuentes fueron *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp. y *Penicillium* spp., igualmente con predominio de *Aspergillus* spp.

Las especies de *Fusarium* aisladas de las muestras de suelo analizadas fueron *F.solani* y *F.oxysporum*, siendo *F.oxysporum* la especie mayoritariamente aislada en las distintas muestras de suelo analizadas. Los suelos tratados mediante Solarización, Biofumigación y Biosolarización reducen las densidades de población de *Fusarium* spp.. La variación de los niveles de inóculo fue mucho más moderados en Biosolarización y Biofumigación que en los suelos Solarizados y el Testigo. La reducción de las densidades de población podría estar relacionada con la aplicación de materia orgánica (Bibliografía de supresión o reducción del género *Fusarium*).

El suelo no desinfectado (Testigo) alberga ausencia en la densidad de población de *Cladosporium* spp., mientras que los suelos tratados con las diferentes técnicas de desinfección recogen densidades de población de *Cladosporium* spp., presentando excepción para M4 (117 D.D.T) donde no se aisló este género. La aparición de *Cladosporium* spp. en Biofumigación y Biosolarización podría estar asociada a la incorporación de materia orgánica al suelo. En adición, la incorporación de materia orgánica incluye la entrada de nuevos géneros de hongos, obligando a la microbiota fúngica manifestar su habilidad saprofítica competitiva por el alimento (Lockwood, 1977) y por el espacio (Tello, 1988).

Un comportamiento similar al de *Cladosporium* spp. se observa para las densidades de población de *Acremonium* spp. Los suelos tratados mediante las diferentes técnicas de biodesinfección albergan densidades de población de *Acremonium* spp.. Sin embargo, el suelo no desinfectado (Testigo) recoge bajos niveles de densidad de población de *Acremonium* spp. para los 70 D.D.T. y 117 D.D.T., mientras que para el suelo desnudo y a los 27 D.D.T. este género de hongos no fue aislado. La presencia de *Acremonium* spp. podría estar asociada al cultivo de sandía, pudiendo ser estimulado su desarrollo por la secreción de sustancias nutritivas óptimas para este género, por parte de las raíces de la planta. Las afirmaciones de Garbeva *et al.* (2004), nos indican que en unas ocasiones, es el tipo de suelo y en otras la planta, el factor clave para el establecimiento de una determinada diversidad de microorganismos que interactúan con la planta.

Con respecto a la diversidad de hongos, se observa un ligero aumento para los suelos tratados mediante Biofumigación respecto de los Biosolarizados. Adicionalmente, la diversidad de hongos y las especies dominantes residentes en los suelos han sido influenciadas por la aplicación de materia orgánica. La incorporación de tejidos de plantas al suelo incrementa la biomasa microbiológica (Lynch y Pating, 1980) con la ventaja de aumentar la actividad microbiológica. La mejora de la fertilidad puede suprimir patógenos del suelo mediante el incremento de la competición microbiológica y el antagonismo, mientras, al mismo tiempo, reduce el potencial de inóculo a través de la geminación y la lisis de propágulos del suelo (Lumsden *et al.*, 1983).

Las observaciones de Parkinson *et al.* (1964) referidas a la rizosfera de la col, cebada y haba, sostienen que la colonización inicial de la parte cercana a la raíz, por parte de la población fúngica, podría estar constituida por un amplio rango de hongos, para posteriormente, dar paso a otra microbiota más estable y típica.

4.2.5. Resumen

La composición de la microbiota fúngica del suelo estará condicionada por las fuentes nutritivas que el suelo sustente, enmiendas orgánicas incorporadas, prácticas culturales (en nuestro estudio métodos de biodesinfección de suelos), habilidad saprofitica competitiva de la microbiota del suelo y de los exudados de las raíces de las plantas.

Un trabajo de Kreutzer recogido por Tello (1997) organiza la recolonización del suelo por la población microbiológica; comienza por una reactivación y desarrollo de Bacterias, seguido por la recolonización de actinomicetos, con la posterior recolonización de hongos. Los géneros de hongos recolonizan el suelo en función de las fuentes nutritivas disponibles; primero, las especies de hongos que emplean azúcares y ácidos libres ej: *Mortirella*, *Pythium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, etc.; posteriormente, las especies que utilizan complejos hidrocarbonados ej: *Alternaria*, *Chaetomium*, *Penicillium*, etc.

Los géneros y especies de hongos aislados de las muestras de suelo tomadas han sido agrupados en función de la fecha de aislamiento. El grupo 1 está constituido por aquellos géneros de hongos presentes antes, durante y después del cultivo de sandía siendo estos: *Acremonium* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp. y *F. oxisporum*. El grupo 2, géneros aislados antes del cultivo: *Verticillium* spp. En el grupo 3, se presentan los géneros aislados solo durante el cultivo de sandía: *Trichoderma* spp. y *Rhizoctonia* spp. Mientras que en el grupo 4 se incluyen los géneros de hongos y especies aisladas durante el cultivo y al finalizar el mismo, estando constituido por *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., *F.solani*, *Phoma* spp. y *Humicola* spp.

La cantidad y disponibilidad de materia orgánica presente en el suelo tiene una relación directa con el número de hongos que se encuentran en él (Subba Rao, 1999). Este autor refirió que las fluctuaciones estacionales en el número de hongos presentes en el suelo no son frecuentes en zonas no cultivadas, y que las prácticas culturales son las que influyen en la naturaleza y composición de las especies fúngicas. También indica que la cantidad de materia orgánica presente en el suelo tiene una relación directa con el número de hongos que se encuentran en el suelo ya que la mayoría de ellos poseen una nutrición heterótrofa. En este mismo sentido, Alexander (1980) afirma que cada especie o variedad de planta induce un efecto rizosférico característico, pero cuando las raíces envejecen este efecto desaparece progresivamente, dando lugar a la proliferación de los microorganismos que intervienen en la descomposición de los tejidos vegetales muertos. Las raíces pueden influir sobre el crecimiento de especies de microorganismos, seleccionando algunos al inhibir el crecimiento de otros (Walker *et al.*, 2003).

Tabla 9. Presencia de géneros de hongos y especies y Oomicetos aislados de las muestras procedentes de los suelos tratados mediante Biofumigación y Biosolarización.

Géneros + Especies	M1		M2		M3		M4		Frecuencia	
	BIOSOLA.	BIOFUM.	BIOSOLA.	BIOFUM.	BIOSOLA.	BIOFUM.	BIOSOLA.	BIOFUM.	BIOSOLA.	BIOFUM.
<i>Absidia</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
<i>Acremonium</i> spp.	+	+	+	+	+	-	+	+	4	3
<i>Alternaria</i> spp.	-	+	-	+	-	+	+	-	1	3
<i>Aspergillus</i> spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	4	4
<i>Botrytis</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
<i>Cladosporium</i> spp.	+	+	-	+	+	+	+	-	3	3
<i>F.equiset</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
<i>F.soxysporum</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	4	3
<i>F.solani</i>	-	-	-	+	-	+	+	+	1	3
<i>Humicola</i> spp.	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
<i>MacroPhoma</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
<i>Mucor</i> spp.	-	-	-	+	-	-	+	-	1	1
<i>Penicillium</i> spp.	-	+	+	+	+	+	+	+	3	4
<i>Phoma</i> spp.	-	-	-	+	-	-	-	+	0	2
<i>Rhizoctonia</i> spp.	-	-	-	+	-	-	-	-	0	1
<i>Rhizopus</i> spp.	-	-	-	+	-	-	-	+	0	2
<i>Stachibotrys</i> spp.	-	+	+	-	+	-	-	-	2	1
<i>Verticillium</i> spp.	-	+	-	-	-	-	-	-	0	1
<i>Trichoderma</i> spp.	-	-	+	+	-	-	-	-	1	1
<i>Ulocladium</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
No identificado	-	+	-	+	+	+	+	+	2	4
<i>Pythium</i> spp.			+	+	+	+	+	+	3	3
	4	9	6	13	7	7	10	8		

Tabla 10. Variación en la densidad de los principales géneros de hongos aislados antes, durante y al finalizar el ciclo de cultivo de sandía para las diferentes biodesinfecciones aplicadas y el testigo. Valores (media \pm desviación estándar) expresados en 10^3 UFC·g⁻¹ de suelo seco.

Género	Muestreo (D.D.T.)	Testigo	Solarización	Biofumigación	Biosolarización
<i>Acremonium spp.</i>	Antes	0,00 \pm 0,00	1,5 \pm 1,18	0,10 \pm 0,32	2,48 \pm 3,99
	28	0,00 \pm 0,00	2,47 \pm 1,74	0,30 \pm 0,57	2,05 \pm 1,58
	70	0,10 \pm 0,32	0,40 \pm 0,52	0,00 \pm 0,00	0,30 \pm 0,48
	117	1,2 \pm 1,03	1,5 \pm 1,51	8,35 \pm 8,45	49,9 \pm 10,82
<i>Aspergillus spp.</i>	Antes	0,10 \pm 0,31	0,00 \pm 0,00	0,42 \pm 0,85	0,28 \pm 0,56
	28	0,10 \pm 0,32	9,90 \pm 3,28	3,70 \pm 6,80	0,27 \pm 0,45
	70	0,85 \pm 0,88	1,55 \pm 1,82	1,94 \pm 3,22	0,33 \pm 0,55
	117	0,60 \pm 1,00	0,33 \pm 0,55	4,19 \pm 8,03	7,44 \pm 10,38
<i>Cladosporium spp.</i>	Antes	0,00 \pm 0,00	0,85 \pm 1,04	0,35 \pm 0,49	0,15 \pm 0,49
	28	0,00 \pm 0,00	2,10 \pm 1,45	0,90 \pm 0,74	0,00 \pm 0,00
	70	0,00 \pm 0,00	0,30 \pm 0,47	0,15 \pm 0,37	0,53 \pm 0,94
	117	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
<i>F.oxysporum</i>	Antes	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,10 \pm 0,32ç	0,20 \pm 0,42
	28	181,60 \pm 31,39	62,60 \pm 6,85	1,07 \pm 1,23	4,14 \pm 4,48
	70	1,20 \pm 0,63	1,20 \pm 1,36	0,00 \pm 0,00	0,73 \pm 1,05
	117	2,23 \pm 2,64	26,57 \pm 37,24	2,50 \pm 2,26	1,95 \pm 2,33
<i>Penicillium spp.</i>	Antes	0,40 \pm 0,70	0,50 \pm 0,53	0,20 \pm 0,42	0,00 \pm 0,00
	28	1,00 \pm 0,92	0,00 \pm 0,00	0,13 \pm 0,35	0,34 \pm 0,69
	70	0,13 \pm 0,35	0,89 \pm 1,29	1,40 \pm 2,34	0,38 \pm 0,75
	117	0,10 \pm 0,32	0,00 \pm 0,00	2,10 \pm 2,59	0,20 \pm 0,42

D.D.T.: Días después del trasplante

4.3. Cuantificación de la microbiota bacteriana

4.3.1. Cuantificación de la densidad de población de bacterias en función de los distintos tratamientos.

La tabla 11 muestra los valores de UFC de bacterias obtenidos antes del trasplante y durante todo el ciclo de cultivo: 28, 70 y al final del cultivo 117 en días después de trasplante (D.D.T.), en función de las distintas materias orgánicas empleadas y aplicadas mediante biofumigación y biosolarización.

Antes del trasplante y después del ciclo de cultivo de tomate (M1)

En biofumigación: existen diferencias significativas entre tratamientos (p -valor $< 0,05$). Los suelos tratados con *Brassicas* registran la mayor densidad de población de bacterias antes de realizar el trasplante, valores muy superiores a los observados en los suelos tratados con Biofence®. El testigo, por el contrario, presenta valores próximos a cero.

En biosolarización: existen diferencias significativas entre tratamientos (p -valor $< 0,05$). Los suelos tratados con Biofence® recogieron una mayor densidad de población bacteriana respecto de los suelos tratados con *Brassicas*, sin embargo los valores son semejantes si son comparados con las muestras de suelo pertenecientes al Testigo donde se registraron valores de densidad de población 3 veces superior a los suelos tratados.

Una de las diferencias que caracteriza esta muestra es la ausencia de plantas debido a que la muestra se tomó durante el periodo de transición de un cultivo a otro, coincidiendo con el final del ciclo de cultivo de tomate. De esta manera, las muestras de suelo van a estar condicionadas por las fuentes nutritivas que el suelo sustente así como de la habilidad de la microbiota para permanecer en estado de latencia.

Durante el cultivo

- **M2 (28 D.D.T)**

En biofumigación existen diferencias significativas entre tratamientos (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis) durante toda la secuencia de cultivo (Tabla 11). La densidad de población de bacterias 28 D.D.T. (una vez realizado el trasplante), presenta un leve aumento para los tratamiento T_0 =testigo y T_1 =Biofence®, no obstante, para el tratamiento T_2 =*Brassicas* disminuye.

En Biosolarización existen diferencias significativas entre tratamientos (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis), siendo superiores la densidad de población de bacterias en T_1 =Biofence® y T_2 =*Brassicac*s con respecto a T_0 =Testigo. Sin embargo, el recuento de UFC de bacterias aumento para T_0 =testigo y T_1 =Biofence® mientras que disminuye T_2 =*Brassicac*s si se le compara con los resultados obtenidos en M1, suelo sin cultivo, previo al trasplante y posterior al cultivo de tomate.

- **M3 (70 D.D.T.)**

En biofumigación existen diferencias significativas entre tratamientos (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis), presentando una mayor densidad de población bacteriana T_1 =Biofence® respecto a T_0 =Testigo y T_2 =*Brassicac*s. En este muestreo, la planta presenta un estado fenológico avanzado.

En biosolarización existen diferencias significativas entre tratamientos (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis). La densidad de población de bacterias a los 70 D.D.T. para la desinfección mediante biosolarización presenta un aumento en todos los tratamientos, siendo especialmente considerable para T_2 =*Brassicac*s donde se produce un aumento en la densidad de población bacteriana si es comparado con los resultados obtenidos a los 28 D.D.T.

Al finalizar el cultivo

- **M4 (D.D.T.)**

En biofumigación las muestras de suelo analizadas presentan diferencias significativas (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis). La densidad de población bacteriana posee un comportamiento diferente según el tratamiento empleado. El recuento de UFC.g⁻¹ para T_0 =testigo y T_2 =*Brassicac*s mayor en el último muestreo sí es comparado con los resultados obtenidos a los 70 D.D:T., mientras que el recuento de UFC.g⁻¹ para T_1 =Biofence® disminuye. El tratamiento que sustenta la mayor densidad de población de bacterias se produce para T_2 =*Brassicac*s durante todo el estudio en la desinfección mediante biofumigación del suelo.

En biosolarización las muestras de suelo analizadas no presentan diferencias significativas entre tratamientos (p -valor $> 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis).

Tabla 11. Efecto de las distintas materias orgánicas aplicadas mediante biofumigación y biosolarización sobre la densidad de población de bacterias, valores (media \pm desviación estándar) expresados en UFC·g⁻¹ de suelo seco, antes del trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al final del cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.).

Bacterias (x10 ³ UFC)				
Tratamientos	M1 (Antes)		M2 (28 D.D.T.)	
	Biofumigación	Biosolarización	Biofumigación	Biosolarización
T ₀ = Testigo	11,78 \pm 18,46	148,3 \pm 243,39	92,05 \pm 92,81	36,4 \pm 39,75
T ₁ =Biofence® 0,3 Kg·m ⁻²	30,18 \pm 49,08	31,08 \pm 51,01	59,18 \pm 43,17	125,43 \pm 220,55
T ₂ =Brassicas 0,8 Kg·m ⁻²	181,08 \pm 273,67	14,15 \pm 10,9	115,2 \pm 71,72	73,15 \pm 42,43
<i>p</i> -valor	6,08483E-05	0,229596	7,97E-03	2,25E-05
Tratamientos	M3 (70 D.D.T.)		M4 (117 D.D.T.)	
	Biofumigación	Biosolarización	Biofumigación	Biosolarización
T ₀ = Testigo	257,55 \pm 248,27	98,9 \pm 130,35	291,75 \pm 118,04	137,58 \pm 91,71
T ₁ =Biofence® 0,3 Kg·m ⁻²	451,23 \pm 342,23	150,15 \pm 147,20	256,3 \pm 225,87	196,2 \pm 146,37
T ₂ =Brassicas 0,8 Kg·m ⁻²	260,20 \pm 212,98	209,7 \pm 247,42	480,05 \pm 365,63	153,38 \pm 85,98
<i>p</i> -valor	0,00342133	0,00156036	0,0224176	0,205623

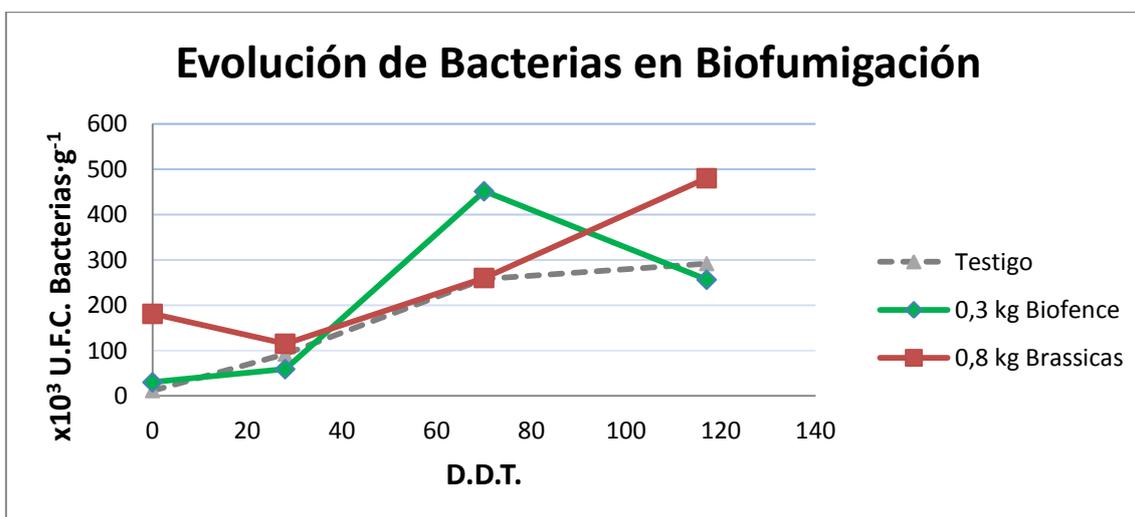


Figura 36. Densidad de población de bacterias según distintas materias orgánicas aplicadas mediante biofumigación, expresadas en x10³ UFC·g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28 y 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo en biofumigación: testigo sin materia orgánica.

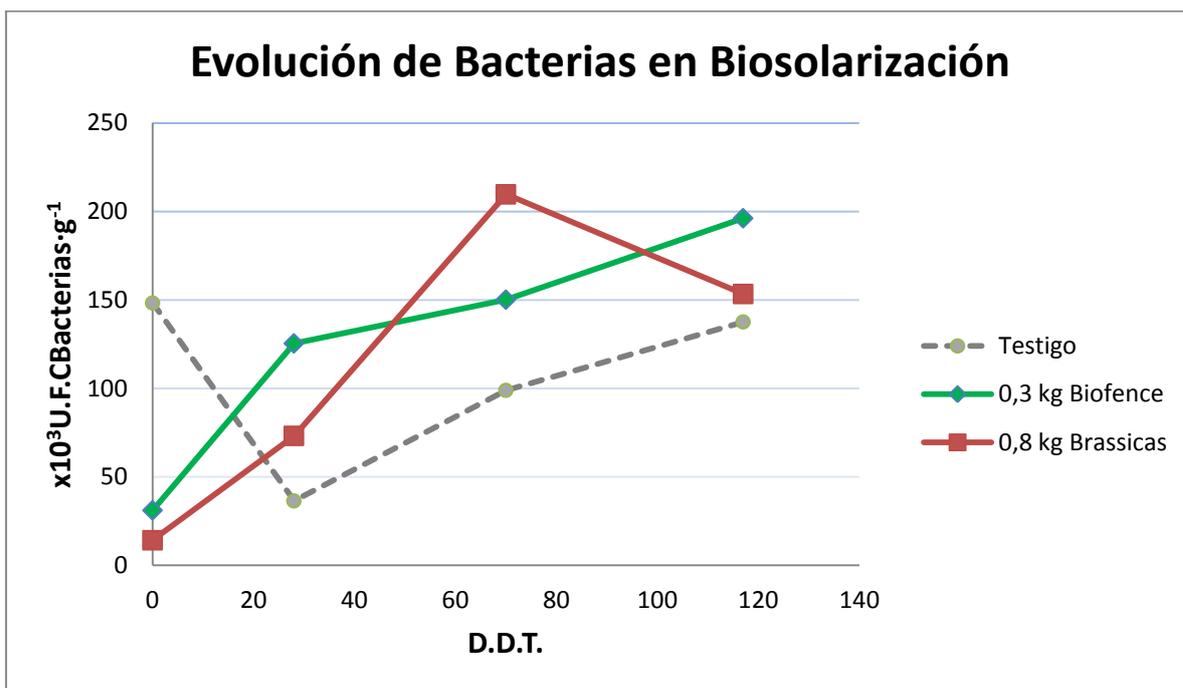


Figura 37. Densidad de población de bacterias según distintas materias orgánicas aplicadas mediante biosolarización, expresadas en $\times 10^3$ UFC·g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo en biosolarización: testigo sin materia orgánica + solarización.

4.3.2. Cuantificación de la densidad de población de bacterias en función de las distintas desinfecciones.

La tabla 12 muestra las densidades de población registradas antes del trasplante y durante el ciclo de cultivo de la sandía: 28, 70, así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.) en función de las diferentes desinfecciones (Testigo: Testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*) + solarización.

Antes del trasplante y tras el cultivo de tomate (M1)

Las muestras de suelo presentan diferencias significativas entre desinfecciones (p -valor < 0,05 mediante el test de Kruskal-Wallis) (Tabla _). En M1, suelo sin cultivo, los valores de densidad de población de bacterias para Biosolarización son muy próximos a cero siendo similares a los valores obtenidos para el Testigo. Por el contrario, los análisis realizados sobre el suelo desinfectado mediante Solarización sustenta el mayor recuento en UFC·g⁻¹ de suelo seco para suelo desnudo.

Durante el ciclo de cultivo**• M2 (28 D.D.T)**

Las muestras de suelo analizadas, en M2, muestran diferencias significativas entre desinfecciones (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis), obteniéndose valores de densidad de población similares tanto en Biofumigación como Biosolarización siendo semejantes a su vez al Testigo (Tabla 12). De los resultados obtenidos, si se les compara con M1, podría decirse que las bacterias tanto en Biofumigación como en Biosolarización, presentan una tendencia generalizada a los 28 D.D.T. presentando valores de densidad similares. A excepción de lo que ocurre en Solarización, donde la densidad de población de bacterias disminuye obteniendo valores inferiores a los registrados en las distintas desinfecciones y en el testigo (Figura 38).

Por el contrario, para el suelo desinfectado mediante Biosolarización se observa un aumento en la densidad de población de bacterias presentando un comportamiento similar al Testigo.

• M3 (70 D.D.T)

Las muestras de suelo analizadas, en M3, muestran diferencias significativas entre desinfecciones (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis), obteniéndose valores en la densidad de población de bacterias muy superiores a las demás desinfecciones en el caso de biofumigación ($355,71 \times 10^3$ UFC·g⁻¹ de suelo seco).

Para todas las desinfecciones aumenta la densidad de población de bacterias con respecto a M2 (28 D.D.T). La razón de este aumento en la presencia del número de bacterias puede ser debido al estado fenológico de la planta así como la disponibilidad de fuentes nutritivas.

Al finalizar el cultivo**• M4 (117 D.D.T)**

Las muestras de suelo analizadas, en M4, muestran diferencias significativas entre desinfecciones (p -valor $< 0,05$ mediante el test de Kruskal-Wallis), manteniéndose valores en la densidad de población de bacterias muy superiores a las demás desinfecciones para el caso de biofumigación ($368,18 \times 10^3$ UFC·g⁻¹ de suelo seco) siendo el valor más alto registrado durante todo el ciclo de cultivo.

La densidad de población de bacterias aumenta para todas las desinfecciones realizadas y los testigos con respecto a M2 (28 D.D.T). La razón de este aumento en la presencia del número de bacterias puede ser debido al estado fenológico de la planta así como la disponibilidad de fuentes nutritivas.

Tabla 12. Efecto de distintas desinfecciones sobre la densidad de población de bacterias, valores (media \pm desviación estándar) expresados en $\times 10^3$ UFC·g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70, así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*) + solarización.

Desinfecciones	Bacterias ($\times 10^3$ UFC)			
	M1 (Antes)	M2 (28 D.D.T.)	M3 (70 D.D.T.)	M4 (117 D.D.T.)
Testigo (T ₀)	11,78 \pm 18,46	92,05 \pm 92,81	257,55 \pm 248,27	291,75 \pm 118,04
Solarización (T ₀ p)	148,30 \pm 243,39	36,40 \pm 39,75	98,90 \pm 130,35	137,58 \pm 91,71
Biofumigación (T ₁ +T ₂)	105,63 \pm 209,59	87,19 \pm 65,22	355,71 \pm 299,09	368,18 \pm 322,27
Biosolarización (T ₁ p+T ₂ p)	22,61 \pm 37,62	99,29 \pm 159,98	179,93 \pm 204,49	174,79 \pm 121,21
p-valor	0,000732341	0,00106414	1,35E-09	5,44E-07

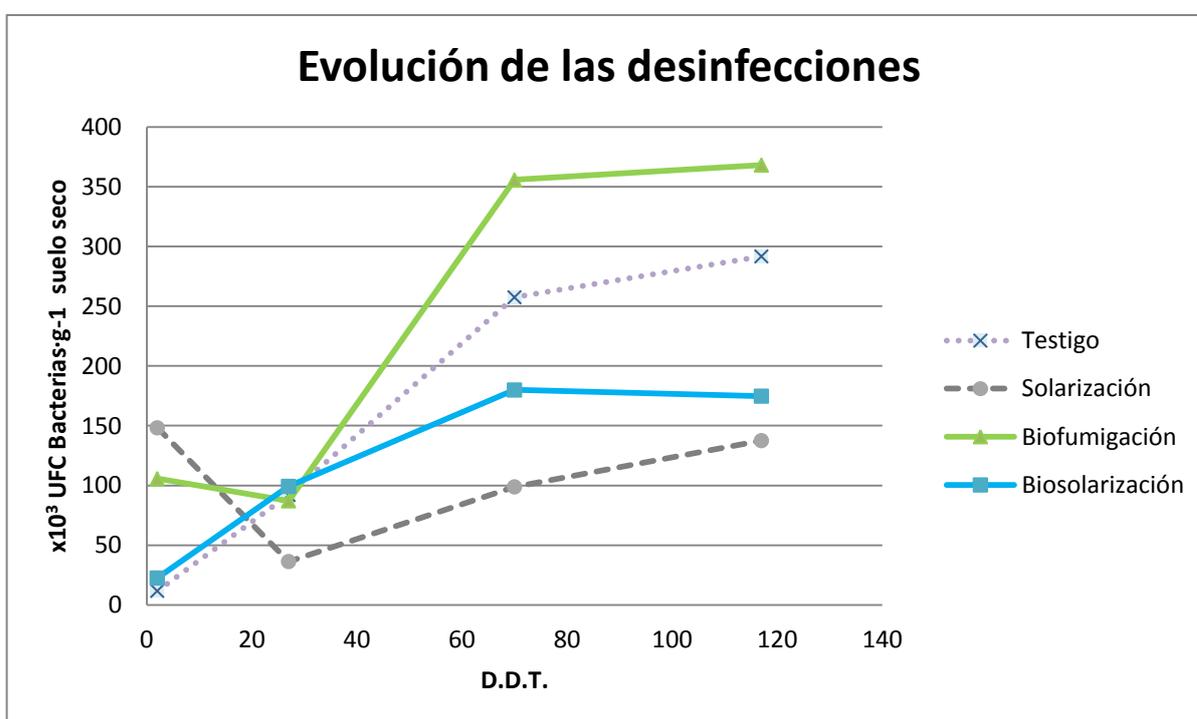


Figura 38. Densidad de población bacteriana según distintas desinfecciones, expresadas en $\times 10^3$ UFC·g⁻¹, antes de realizar el trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70, así como al finalizar el cultivo: 117 en días después de trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*) + solarización.

4.3.3. Resumen

Tras la desinfección, en el cultivo de tomate, ambas técnicas de biodesinfección (Biofumigación y biosolarización) tuvieron un efecto desinfectante frente a bacterias (Marín-Guirao *et al.*, 2012). El mismo trabajo sugiere que el suelo arenado actúa como desinfectante del suelo aun sin aporte de materia orgánica puesto que en suelos donde no se adicione materia orgánica, se observó una disminución de densidad de población bacteriana.

En biofumigación, en el suelo libre de cultivo, periodo de transición entre el cultivo de tomate y el cultivo de sandía se presenta la menor densidad de población de bacterias en T_0 =testigo y T_1 =Biofence®. La entrada del cultivo de Sandía al sistema estimula levemente la actividad bacteriana para ambos suelos, mientras que T_2 =*Brassicas* disminuye. A medida que avanza el cultivo, en los suelos tratados con Biofence® se observa un crecimiento en la densidad de población de bacterias alcanzando el mayor recuento de $UFC \cdot g^{-1}$ a los 70 D.D.T., para posteriormente mostrar un decrecimiento poblacional al final del cultivo. Por el contrario, *Brassicas* tras la disminución en la densidad de población de bacterias registradas a los 27 D.D.T., la actividad bacteriana aumenta de manera exponencial obteniéndose el mayor recuento de $UFC \cdot g^{-1}$ suelo seco a los 117 D.D.T.

En Biosolarización, la densidad poblacional bacteriana presente en los suelos tratados con Biofence® y *Brassicas* poseen valores similares al inicio del cultivo. Para Biofence®, se observa un aumento progresivo durante todo el ciclo de cultivo a diferencia del suelo tratado con *Brassicas* que experimenta el mayor recuento de $UFC \cdot g^{-1}$ de suelo seco a los 70 D.D.T., seguidamente desciende la densidad de población de bacterias al final del cultivo.

En general, los diferentes análisis realizados para las distintas desinfecciones empleadas al suelo y los testigos, sobre las variaciones producidas en la densidad de población de bacterias, muestran un comportamiento similar basándonos en los resultados obtenidos. Se observa una tendencia general incrementando la densidad de población bacteriana para todos los suelos muestreados. Sin embargo, los valores de densidad de población varían significativamente entre desinfecciones y tratamiento.

La adición de enmiendas orgánicas mediante biofumigación influye en la población microbiológica del suelo. Un ejemplo del efecto estimulante sobre la comunidad bacteriana, lo corrobora el trabajo realizado por Sacristán *et al.*, (2004) afirmando que el aporte de diferentes dosis de restos de fresa como biofumigante estimula la población de anaerobios mientras que los aerobios aparecen inalterados. Esto vendría a justificar las afirmaciones realizadas por Bonanomi *et al.*, (2007) quienes aseguran que la incorporación de enmiendas orgánicas al suelo mejoran las propiedades y fertilidad del suelo. El incremento de la actividad microbiológica debido al aporte de materia orgánica fresca según Janvier *et al.*, (2007) puede ayudar al control de patógenos del suelo a través de la competición, antibiosis, parasitismo/predación, etc. Asimismo, la mejora de las propiedades físico-químicas y la fertilidad del suelo podrían influir en la producción del cultivo. Según Marín-Guirao *et al.* (2012) la producción de las parcelas con Biofence® (T₁) (Biofumigación=9,60 kg/m² y biosolarización=9,84 kg/m²) fue mayor que en las parcelas donde se adicionaron restos vegetales de Brócoli (T₂), (Biofumigación=9,02 kg/m² y Biosolarización=9,30 kg/m²) aunque no mostró diferencias significativas. La aplicación de Biofence® mediante biosolarización sí mostró diferencias significativas con el tratamiento testigo.

La población de bacterias experimenta fluctuaciones para los diferentes muestreos realizados durante el cultivo. El estudio realizado por Nuñez-Zofío *et al.* (2012) mostró que los suelos biodesinfectados mejoraban las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas en comparación con los suelos sin aporte de materia orgánica y suelos solarizados. Del computo total, los actinomicetos y las bacterias pertenecientes al género *Pseudomonas* spp. predominaron en suelos tratados con *Brassicas Sinapis*. La aplicación de *Brassica napus* al suelo incrementa las poblaciones de bacterias amonio-oxidadoras y *Streptomyces* spp. (Cohen *et al.*, 2005). Como apuntó Beyer *et al.* (1993), la actividad enzimática está estrechamente relacionada con el contenido en materia orgánica. En este mismo sentido, Omirou *et al.* (2011) citó que la biofumigación influye sobre las agrupaciones de microorganismos del suelo como respuesta a la adición de materia orgánica fresca, descartando un efecto tóxico directo sobre los microorganismos del suelo. Estos estudios justifican la alta densidad de población de bacterias obtenida durante el cultivo en comparación con los suelos Biosolarizados y Solarizados.

La densidad de población de bacterias podría ser consecuencia de la proliferación, eliminación o dormancia de algunos grupos de bacterias limitantes causada por la biosolarización del suelo como

apunto Mowlick *et al.* (2013). Mowlick *et al.*, (2013), afirmó que la presencia de condiciones de anaerobiosis durante el proceso de biosolarización influye en la comunidad microbológica, donde comienzan a predominar grupos de bacterias anaeróbicas, como es el caso de *Clostridia* y *Bacillus*. La combinación de temperaturas superiores a 43°C y la adición de enmiendas orgánicas al suelo reducen la población de bacterias (Davi *et al.*, 1981; Islam y Toyora, 2004). Las bacterias podrían tener una distribución universal en el suelo y tener una pre-disposición para la supervivencia en tratamientos con condiciones extremas y recuperarse tras los tratamientos (Kämpfer, 2006). Similares conclusiones obtiene Mowlick *et al.*, (2009) afirmando que las comunidades de bacterias podrían recuperarse durante el cultivo en los suelos Biosolarizados.

Asimismo, debe ser considerado que la presencia de plantas tiene un efecto rizosférico en el que se liberan compuestos bioquímicos a través de las raíces, estimulando la actividad microbológica (Bradi *et al.*, 2009). Qiujun *et al.* (2014) afirma que existe una correlación negativa entre la diversidad de bacterias del suelo y la incidencia de enfermedades causadas por patógenos del suelo.

La estructura de la comunidad de bacterias del suelo es compleja y podría estar condicionada por numerosos factores como el tipo de suelo, factores edáficos, clima y uso de suelo (Preem *et al.*, 2012; Shen *et al.*, 2013; Wallenius *et al.*, 2011; Peralta *et al.*, 2013). Sin embargo, según Tello *et al.*, (2010) el pH y la conductividad eléctrica parecen no ser alterados por la aplicación de métodos de biodesinfección.

4.4. Evaluación de la presencia de Oomicetos.

4.4.1. Evaluación de la presencia de Oomicetos en función de los distintos tratamientos.

La tabla 13 muestra la presencia de Oomicetos obtenidos antes del trasplante y durante el ciclo de cultivo: 28, 70, así como al finalizar el cultivo: 117 en días después de trasplante (D.D.T.), en función de las distintas materias orgánicas empleadas y aplicadas mediante biofumigación y biosolarización.

En ninguna de las muestras de suelo estudiadas se detectó la presencia del género *Phytophthora*, sin excepción este género de hongos estuvo ausente en el suelo sin tratar (Testigo) y

en los suelos tratados con diferentes métodos de biodesinfección (Solarización, Biofumigación y Biosolarización). Por el contrario, hongos del género *Pythium* fueron detectados en diversas muestras estudiadas.

Antes del trasplante y después del ciclo de cultivo de tomate (M1)

Antes del trasplante, las muestras de suelo estudiadas tanto en los suelos en los que se realizaron tratamientos de biodesinfección como en los suelos de las parcelas testigo, no se detecta población alguna de oomicetos.

Durante el cultivo

• M2 (28 D.D.T)

Las muestras de suelo analizadas en M2, manifiestan presencia de *Pythium* en Biofumigación en los suelos tratados con *Brassicac*, mientras que para los suelos tratados con Biofence® y el testigo no se detectó este género.

Las muestras de suelo analizadas para el caso de Biosolarización revelaron la presencia de *Pythium* para suelos tratados con Biofence®, mientras que para los suelos tratados con *Brassicac* y el testigo se observó una ausencia del género

• M3 (70 D.D.T.)

Las muestras de suelo analizadas en M3, revelan presencia de *Pythium spp.* en Biofumigación en los suelos tratados con Biofence®, mientras que para los suelos tratados con *Brassicac* y el testigo no se detectó este género.

Las muestras de suelo analizadas para el caso de Biosolarización revelaron la presencia de *Pythium* para los suelos tratados con *Brassicac*, mientras que para los suelos tratados con Biofence® y el testigo se observó una ausencia del género.

Al finalizar el cultivo

• M4 (117 D.D.T.)

Las muestras de suelo analizadas en M4, manifiestan la presencia de *Pythium spp.* en Biofumigación para todos los tratamientos aplicados al suelo y el testigo.

Del mismo modo, en Biosolarización se hace patente la presencia de *Pythium* en todas las muestras de suelo analizadas correspondientes a los tratamientos con *Brassicas*, Biofence® y el Testigo.

Tabla 13. Variación de la presencia de *Pythium spp.* durante y al finalizar el cultivo de sandía para las diferentes tratamientos aplicados al suelo y el testigo. Valores expresados en porcentaje (%).

Pythium								
Tratamientos	M1		M2 (28 D.D.T.)		M3 (70 D.D.T.)		M4 (117 D.D.T.)	
	Biof/Biosol.	Biofumig.	Biosol.	Biofumig.	Biosol.	Biofumig.	Biosol.	
	%	%	%	%	%	%	%	
T ₀ = Testigo	-	-	-	-	-	75,0±30,0	45,0±19,1	
T ₁ =Biofence 0,3 Kg·m ⁻²	-	-	25,0±50,0	10,0±20,0	-	40,0±32,7	45,0±30,0	
T ₂ = <i>Brassicas</i> 0,8 Kg·m ⁻²	-	5,0±10,0	-	-	25,0±50,0	25,0±37,9	50,0±38,3	
p-valor	-	0,367879	0,367879	0,367879	0,367879	0,137	0,90874	

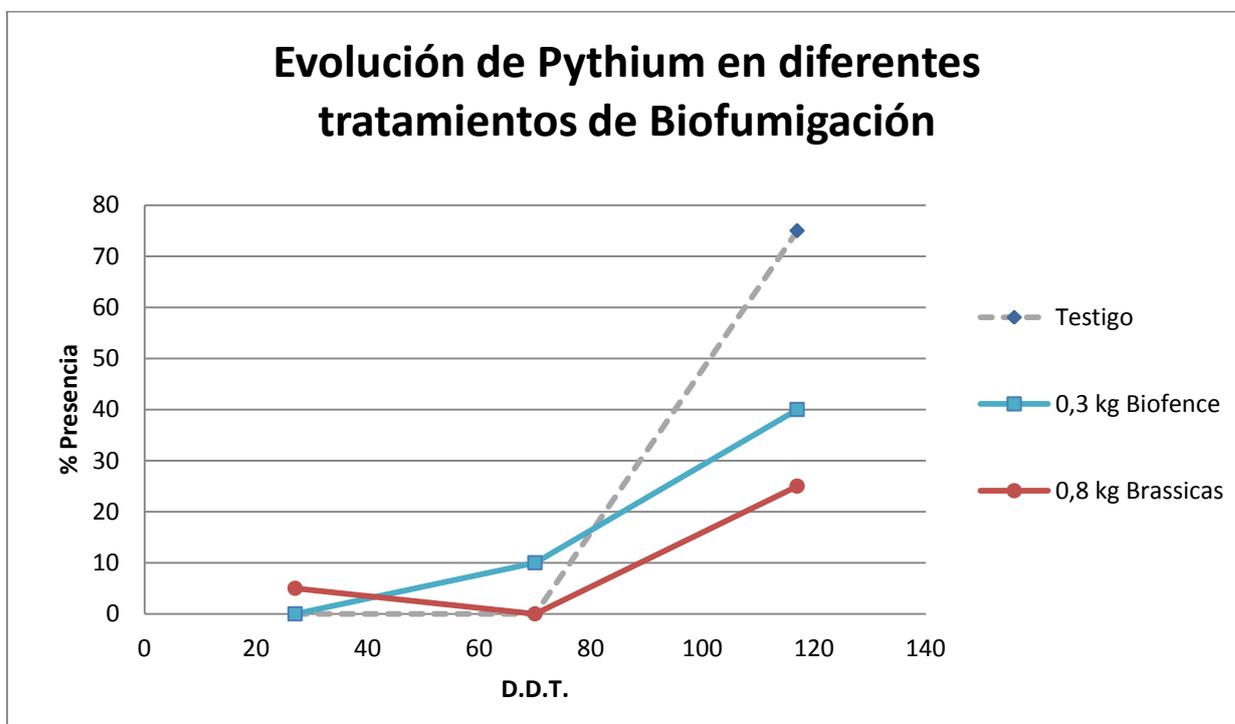


Figura 39. Presencia del género *Pythium* según distintos tratamientos aplicados al suelo mediante el método de Biofumigación, expresado en % durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar: 117 en días después del trasplante (D.D.T.).

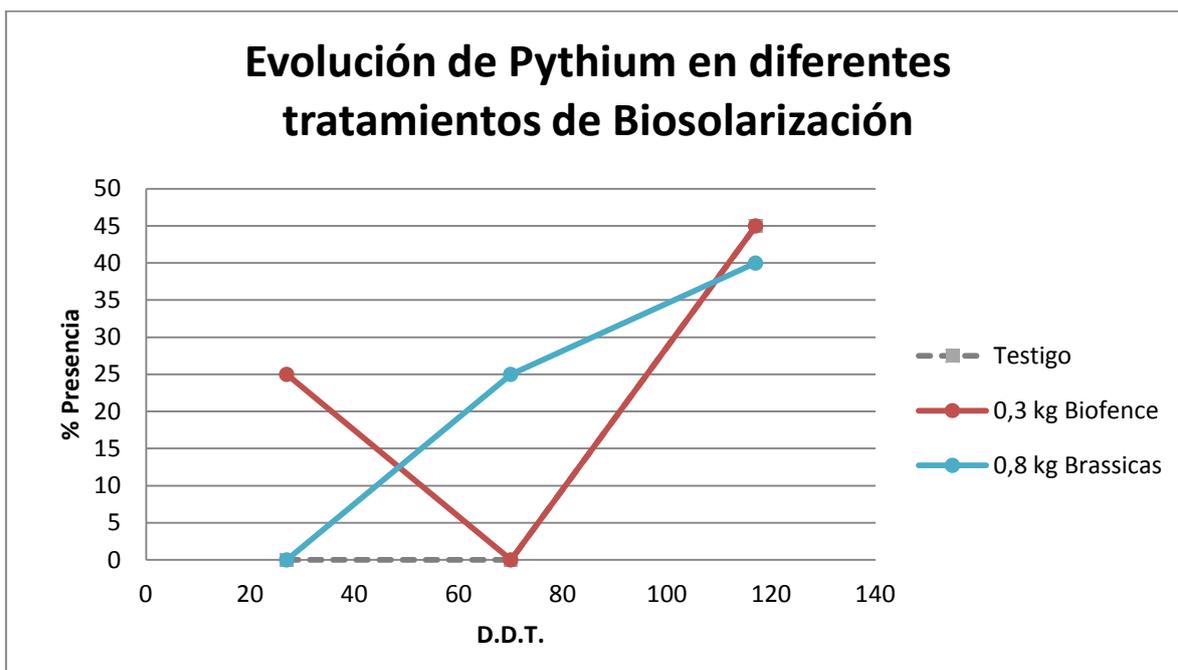


Figura 40. Presencia del género *Pythium spp.* según distintos tratamientos aplicados al suelo mediante el método de Biosolarización, expresado en % durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar el cultivo: 117 en días después del trasplante (D.D.T.).

4.4.2. Presencia de población de Oomicetos en función de las distintas

biodesinfecciones.

La tabla 14 muestra la presencia de Oomicetos obtenidos antes del trasplante, durante el ciclo de cultivo: 28, 70, así como al finalizar el cultivo: 117 en días después de trasplante (D.D.T.), en función de las distintas materias orgánicas empleadas y aplicadas mediante biofumigación y biosolarización.

En ninguna de las muestras de suelo estudiadas se detectó la presencia del género *Phytophthora*. Sin excepción, este género de hongos estuvo ausente en el suelo sin tratar (Testigo) y en los suelos tratados con diferentes métodos de biodesinfección (Solarización, Biofumigación y Biosolarización). Por el contrario, hongos del género *Pythium* fueron detectados en diversas muestras estudiadas.

Antes del trasplante y después del ciclo de cultivo de tomate (M1)

Antes del trasplante, las muestras de suelo estudiadas tanto en los suelos en los que se realizaron tratamientos de biodesinfección como en los suelos de las parcelas testigo, no se detecta población alguna de oomicetos.

Durante el cultivo

• **M2 (28 D.D.T.) y M3 (70 D.D.T.)**

En M2 y M3, las muestras de suelos estudiadas para las diferentes biodesinfecciones de suelo revelan de presencia de *Pythium* en Biofumigación y Biosolarización, mientras que en el suelo Testigo y en Solarización, no se detectó este género. Cabe destacar que el porcentaje de presencia de *Pythium* se mantuvo constante en M2 y M3 para los suelos Biosolarizados (% Presencia=12,5±35,4). No ocurrió lo mismo para suelos Biofumigados, donde el porcentaje de presencia de *Pythium* fue mayor en M2 que en M3.

Al finalizar el cultivo

• **M4 (117 D.D.T)**

En M4, todas las muestras de suelo estudiadas para los diferentes tratamientos de biodesinfección de suelo y el Testigo revelaron presencia de *Pythium*. Los suelos tratados con la cubierta de plástico, ya sea con o sin el suplemento de materia orgánica, obtuvieron valores similares en el porcentaje de presencia de *Pythium* (% presencia de *Pythium* en Biosolarización = 47,5±32,0; % presencia de *Pythium* en Solarización = 45,0±19,1). Los suelos tratados mediante Biofumigación presentaron el porcentaje más bajo de presencia de *Pythium*.

Tabla 14. Variación de la presencia de *Pythium* durante y al finalizar el ciclo de cultivo para los diferentes métodos de biodesinfección de suelo y el testigo. Valores expresados en porcentaje (%) durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*) + solarización.

Desinfección	Pythium			
	M1	M2 (28 D.D.T.)	M3 (70 D.D.T.)	M4 (117 D.D.T.)
	%	%	%	%
Testigo (T ₀)	-	-	-	75,0±30,0
Solarización (T _{0p})	-	-	-	45,0±19,1
Biofumigación (T ₁ + T ₂)	-	25,0±7,1	5,0±14,1	32,5±33,7
Biosolarización (T _{1p} + T _{2p})	-	12,5±35,4	12,5±35,4	47,5±32,0
<i>p</i> -valor	-	0,789417	0,789417	0,225403

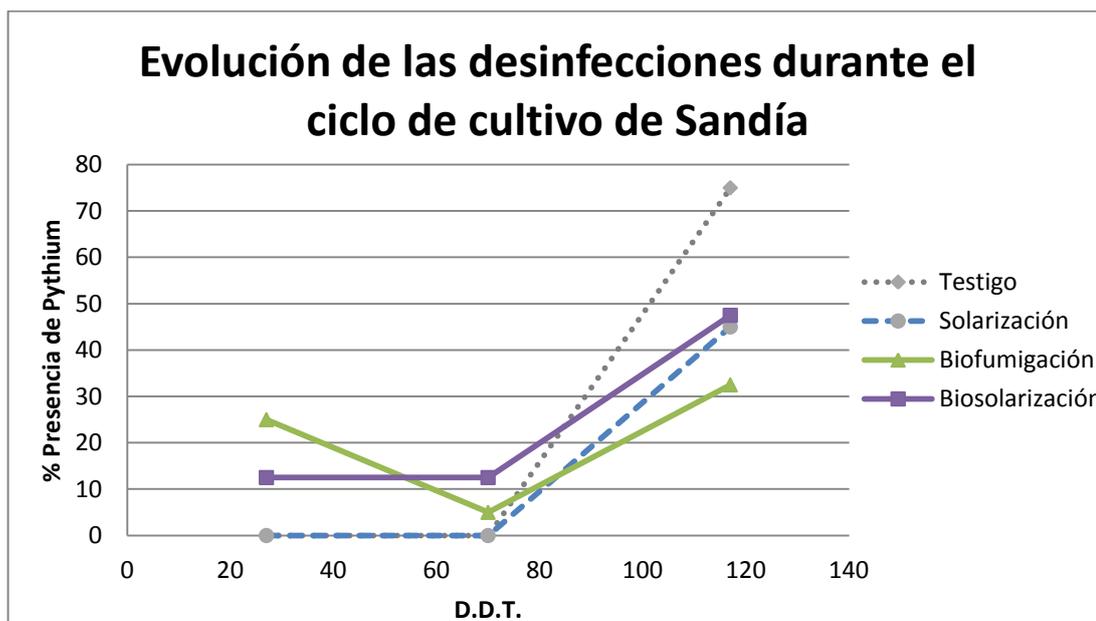


Figura 41. Presencia del género *Pythium* según distintas biodesinfecciones, expresado en % durante el ciclo de cultivo: 28, 70; así como al finalizar: 117 en días después del trasplante (D.D.T.). Testigo: testigo sin materia orgánica; Solarización: testigo sin materia orgánica + solarización; Biofumigación: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*); Biosolarización: con materia orgánica (Biofence® + *Brassicas*) + solarización.

4.4.3. Resumen

Una vez realizada la desinfección de suelo, en el cultivo de tomate, ambas técnicas de biodesinfección (Biofumigación y biosolarización) tuvieron un efecto desinfectante frente a hongos (Marín-Guirao *et al.*, 2012). El mismo trabajo sugiere que el suelo arenado actúa como desinfectante del suelo aun sin aporte de materia orgánica puesto que en suelos donde no se adicione materia orgánica, se observó una disminución en la población de Oomicetos. Al igual que en el presente estudio, los resultados obtenidos durante el cultivo de tomate, no permitieron una interpretación de las variaciones de la microbiota fúngica a lo largo del periodo considerado. No se encontró relación ni con el régimen de riego ni abono ni otras prácticas.

Los géneros *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. se han descrito como hongos típicos del suelo, pero a pesar de ello, existen aspectos como su distribución, actividad y supervivencia en el suelo que son poco conocidos. En general, la no detección de *Phytophthora* spp. en los muestreos realizados antes del trasplante y a lo largo del cultivo podría ser atribuida a la ausencia del mismo en los suelos estudiados, o bien a la baja densidad de inóculo presente en el suelo siendo insuficiente para su detección. Asimismo, la imperfección de las técnicas analíticas (Rodríguez-Molina, 1996) es otro factor que podría relacionarse con la no detección del género *Phytophthora* spp. Las especies de *Phytophthora* spp. no se consideran efectivos competidores saprofíticos en el suelo, aunque en

suelos estériles algunas especies presentan cierta habilidad competitiva saprofítica, siendo esta actividad muy baja en suelos naturales (Zentmyer y Erwin, 1970).

Por el contrario, *Pythium* spp. posee una amplia habilidad competitiva saprofítica. Barton (1961) indica que muchas especies de *Pythium* spp. son colonizadores pioneros capaces de colonizar sustratos vírgenes con contenido en carbono disponible. De esta manera, *Pythium* spp. es característico de suelos cultivados, ya que el aporte frecuente de materia orgánica fresca estimula su desarrollo. Sin embargo, *Pythium* spp. ha sido aislado de suelos de pinar y robledal (Rodríguez-Molina, 1996) donde su presencia estaba ligada a que en esos suelos, se producían aportes de sustratos vírgenes adecuados para el desarrollo de especies del género, o bien que la habilidad de competición saprofítica es mayor a la supuesta.

A pesar de no haber sido aislado *Pythium* spp. en suelos desinfectados mediante Solarización y en los suelos Testigo en los primeros 3 muestreos, al final de cultivo, se detectó la presencia del género *Pythium* spp., al igual que ocurrió para los suelos Biofumigados y Biosolarizados. El aislamiento de *Pythium* spp. en todos los suelos muestreados parecería estar influenciado por el estado fenológico de la planta, donde su avanzado estado de descomposición o la exudación de sustancias facilita la disponibilidad de nuevas fuentes nutritivas, comportándose como estimulante de la diversidad microbiológica del suelo.

Hansen y Keinath (2013), Blok *et al.* (2000) y Motisi *et al.* (2010) observaron que las enmiendas orgánicas estimulan las poblaciones de patógenos en ausencia de un ambiente anaeróbico (Motisi *et al.*, 2010). Asimismo, la biofumigación con *Brassicas* (*B. napus* y *B. juncea*) no fue efectiva para reducir las densidades de población de *Pythium* spp. en comparación con el suelo control (Njoroge *et al.*, 2008). En algunos casos, las poblaciones de *Pythium* spp. aumentaron a raíz de la incorporación de las enmiendas del género *Brassicas* en biofumigación. *B. napus*, *G. max* y *S. alba* incorporados al suelo estimulan el crecimiento de *Pythium* spp (Mazzola *et al.*, 2012). En suelos biofumigados con *B. napus* las poblaciones de *Pythium* spp. se incrementaron respecto de los suelos control durante un periodo de observación de 12-18 semanas (Cohen *et al.*, 2005). Por el contrario, *Brassicas juncea* parece inducir la supresión de enfermedades causadas por *P. abappressorium* una vez inoculado al suelo de 2-12 semanas después de la aplicación de la enmienda orgánica (Weerakoon *et al.*, 2012). Lazzerí *et al.*, (2004) afirma que los pellets de brasicas ejercen un control sobre los patógenos del suelo.

La biosolarización realizada con Biofence® en Agosto, es eficaz para suprimir la capacidad de generar enfermedad de hongos patógenos como *P. capsici* (Hernández, 2011).

El nivel de infección, crecimiento de la planta y mortalidad dependen de las distintas especies de *Pythium* que el suelo sustente. Especies no patógenas de *Pythium* spp. podrían disponer una mayor habilidad competitiva o incluso parasitar especies patógenas de *Pythium* spp. (Hansen y Keinath, 2013). *P. oligandrum* suprime in vitro el crecimiento de *Verticillium dahliae* e incrementa el peso fresco en plantas de pimiento en invernadero comparado con el control, en ausencia y presencia de *V. dahliae* (Al-Rawahi y Hancock, 1998). El medio telúrico podría modular la expresión de la enfermedad, impidiendo su manifestación a pesar de estar presente el patógeno, el hospedador sensible y el ambiente propicio (Rouxel, 1978; Alabouvette, 1983; Lemanceau, 1988).

El avanzado estado en descomposición del cultivo facilita la disponibilidad de nuevas fuentes nutritivas, comportándose como estimulante de la diversidad microbiológica del suelo. Así lo refieren Tello y Lacasa (1990) al estudiar la microflora, y en particular, las especies pertenecientes al género *Fusarium* spp., en distintos suelos con cultivo de clavel. El efecto rizosférico aumentó mensualmente hasta el día 100 después del trasplante atribuyéndolo a la creciente actividad de las plantas.

5. Ensayo de Síntesis y Conclusiones

5. ENSAYO DE SÍNTESIS Y CONCLUSIONES

Conscientes de la complejidad del “ambiente suelo” y de la imperfección de los métodos analíticos, los resultados han permitido establecer las siguientes conclusiones.

La entrada del cultivo de sandía incrementó, de forma generalizada, el número de UFC de hongos así como el número de géneros aislados para todos los suelos muestreados. Los géneros presentes de manera continua en todos los muestreos realizados a lo largo del cultivo han sido *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp y *Penicillium* spp.

La densidad de población bacteriana se incrementó progresivamente a lo largo del cultivo de sandía, alcanzando de manera generalizada mayores valores de UFC tras el cultivo en comparación con los valores obtenidos en estudios de muestreos previos.

Tras finalizar el cultivo, la presencia de oomicetos se incrementó en todos los suelos analizados. Estos resultados sugieren que la raíz de las *Cucurbitaceas*, y en concreto de la sandía, pueden tener capacidad multiplicadora de *Pythium* spp.

No se ha encontrado una interpretación a las variaciones de la microbiota fúngica y bacteriana a lo largo del periodo considerado. Especialmente llamativos, son aquellos muestreos en los que tras presentar valores elevados de hongos y/o bacterias, el muestreo posterior presenta valores prácticamente nulos. No se encuentra relación ni con el regimen de riego, ni con el abonado, ni con otras prácticas culturales a lo largo del cultivo.

6. Bibliografía

- Abarca M.L., (2000).** Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17: S79-S84.
- Abawi G.S., Widmer T.L., (2000).** Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. *Appl. Soil Ecol.* 15, 37–47.
- Abu-Amrieh M., Sabbah W., Isaac J., (1999).** Impact of irrigated agricultural practices on environmental quality and human health in the West Bank. *American Journal of Alternative Agriculture*, 14: 165-170.
- Acero N., Probariza A., Blanco B., Gutiérrez-Moreno F. J., (1994).** Seasonal changes in physiological groups of bacteria that participate in the nitrogen cycle in the rhizosphere of the alder. *Geomicrobiology*, 11: 33.
- Aguirre J., (1963).** Suelos, abonos y enmiendas. Ed. Dossat, S.A. Madrid. 433 pp.
- Aguirre I.I., (1998).** Alternativas químicas al uso del bromuro de metilo para el control de nematodos. *Phytoma-España*, 101: 54-58.ç
- Akhtar M., Malik A., (2000).** Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. *Bioresour. Technol.* 74, 35–47.
- Al-Rawahi A.K., Hancock J.G., (1998).** Parasitism and biological control of *Verticillium dahliae* by *Pythium oligandrum*. *Plant Dis.* 82, 1100–1106.
- Alabouvette C., (1983).** La receptivité des sols aux fusarioses vasculaires. Role de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse Doct. Univ. Nancy I, Nancy, 158 pp.
- Alabouvette C., (1986).** Fusarium wilt-suppressive soils from Châteaurenard region: review of a 10-years study. *Agronomie*, 6 (3): 273-284.
- Alabouvette C., (1990).** La Resistencia de los suelos a las Fusorios vasculars, 35-47. In: Control biológico de las enfermedades del suelo. Cons. Agric. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, Serie Jorn. Téc., nº 4., 172 pp.
- Alabouvette C., Couteaudier Y., Louvet J., (1984).** Recherches sur la resistance des sols aux maladies. IX. Dynamique des populations de *Fusarium oxisporum* f. sp. melonis dans un sol résistant et dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires. *Agronomie* 4 (8): 729-733.
- Alexander M., (1980).** Introducción a la microbiología del Suelo. Edit. AGT México, 163-218, 270-291.

- Angus J.F., Gardner P.A., Kirkegaard J.A., Desmarchelier J.M., (1994).** Biofumigation: Isothiocyanates released from Brassicas roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant and soil* 162, 107-112.
- Antoun H., Prevost D., (2006).** Ecology of Plant growth promoting rhizobacteria. In PGPR: biocontrol and biofertilization. *Springer*. Netherlands, pp 1-38.
- Ashworth L., Gaona S.A., (1982).** Evaluation of clear polyethylene mulch for controlling Verticillium wilt in established pistachio nut groves. *Phytopathology* 72: 243-246.
- Atkinson G.F., (1892).** Some diseases of cotton. Alabama Agriculture Experiment Station Bulletin, 41: 1-65.
- Bailey K.L., Lazarovits G., (2003).** Suppressing soilborne diseases with residue management and organic amendments. *Soil Tillage Res.* 72:169-180.
- Baker R.R., (1980).** Measures to control *Fusarium* and *Phialophora* wilt pathogens of carnation. *Plant Diseases*, 64: 743-749.
- Barea J.M., Azcón-Aguilar C., (1982).** Production of plant growth-regulating substances by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 43: 810-813.
- Barea J.M., Olivares J., (1998).** Manejo de las propiedades biológicas del suelo. En: Jiménez Díaz L.R., Lamo de Espinosa R. (ed). *Agricultura Sostenible*. Editorial Mundi Prensa. Madrid, 173-193.
- Barnett H.L., Hunter B.B., (1972).** *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess publishing company. Minneapolis, (Minnesota), USA. 3rd ed., 198 pp.
- Barres M.T., (2006).** La eliminación del bromuro de metilo en protección de cultivos como modelo mundial para la conservación del medio ambiente. Tesis doctoral. Departamento de Ecosistemas Agroforestales Universidad Politécnica de Valencia. 501 pp.
- Barres M.T., Bello A., Jordá C., Tello J., (2006).** La Eliminación del Bromuro de Metilo en la Protección de Cultivos como Modelo Mundial para la Conservación del Medio Ambiente. Universidad Almería, MAPA, Madrid, 515pp.
- Barton R., (1961).** Saprophytic activity of *Pythium mamillatum* in soils. II. Factors restricting *P. mamillatum* to pioneer colonization of substrates. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 44: 105-118.

- Badri D.V., Weir T.L., Van der Lelie D., Vivanco J.M., (2009).** Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions. *Current Opinion in Biotechnology* 20, 642–650.
- Beding G.D., Turner M.K., Jones J.E., (2002).** Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*, 34. 1073-1082.
- Bell C.H., Price N, Chakrabarti B., (1996).** *The methyl bromide issue*. Bell C H, Price N, Chakrabarti B., (eds.) J. New York, N.Y: Wiley & Sons, 254 pp.
- Bello A., (1988).** Estructura ecológica del suelo y su interés en la protección vegetal. *Horticultura*, 39: 9-19.
- Bello A., (1998).** Biofumigation and integrated pest management. En: A. Bello, J.A. González, M. Arias, R. Rodríguez-Kábana (Eds). *Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. DG XI EU, CSIC, Valencia, 99-126.
- Bello A., (2004).** Alternativas al bromuro de metilo como fumigante de suelos. *Horticultura*, Extra 2004: 61-66.
- Bello A., Díez Rojo M.A., (2004).** Situación del bromuro de metilo como fumigante de suelo en el año 2005. Usos críticos y alternativas en España. *Phytoma España*, 161: 20-25.
- Bello A., Escuer M., Sanz R., López J.A., Guirao P., (1997a).** Biofumigación, nematodos y bromuro de metilo en el cultivo del pimiento. En: A. López, J.A. Mora (Eds.) *Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Consejería de Medioambiente, Agricultura y Agua. Murcia, 67- 108.
- Bello A., García-Álvarez A., Díez-Rojo M.A., (2004).** Ecología de suelos, manejo de la materia orgánica e investigación. En: *Agrícola Española* (Eds.). *Conference book, I Internacional Conference on Soil and Compost Eco-Biology*, 15-17 September 2004, León, España. Pp. 203-204.
- Bello A., González J.A., Tello J.C., (1997b).** La biofumigación como alternativa a la desinfección el suelo. *Horticultura Internacional* 17, 41-43.
- Bello A., González J.A., Arias M., Rodríguez-Kábana R., (1998).** Alternatives to methyl bromide for the Southern European countries. DG XI, EU, CSIC, Valencia, Spain, 404 pp.
- Bello A., López-Pérez J.A., Arias M., Lacasa A., Ros C., Herrero M., Fernández P., (2001).** Biofumigation and grafting in pepper as alternative to MB. *Annual Internacional Research*

Conference on MB Alternatives and Emissions Reductions, 5-9 Nov., San Diego, California, EE UU, 31.1-31.2.

Bello A., López-Pérez J.A., Díaz-Viruliche L., Sanz R., Escuer M., Herrero J., (1999). Biofumigation and organic amendments. In: *Regional Workshop on Methyl Bromide Alternatives for North Africa and Southern European Countries, United Nations Environment Programme (UNEP)*, Francia, 113-141.

Bello A., López J.A., Sanz R., Escuer M., Herrero J., (2000). Biofumigation and organic amendments. In: *Methyl bromide alternatives for North African and Southern European countries*. Eds. UNEP, pp. 113-141.

Bello A., López-Pérez J.A., García Álvarez A., (2003). Biofumigación en agricultura extensiva de regadío. Producción integrada de hortalizas. CSIC-Caja Rural de Alicante, Mundi-Prensa, Madrid, 670 pp.

Bello A., López-Pérez J.A., García A., Arcos S.C., Ros C., Guerrero M.M., Guirao P., Lacasa A., (2004). Biofumigación con solarización para el control de nematodos en cultivo de pimiento. En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.). *Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 129-207.

Berbegal M., García-Jiménez J., Armengol J., (2008). Effect of cauliflower residue amendments and soil solarization on *Verticillium* wilt control in artichoke. *Plant Dis* 92:595–600.

Beyer L., Wachendorf C., Elsner C., Knabe R., (1993). Suitability of dehydrogenase activity assay as an index of soil biological activity. *Biology Fertility Soils*, 16: 52-56.

Blok W., Lamers J.G., Termorshuizen A.J., Bollen G.J., (2000). Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90: 253-259.

Bodet J.M., (1983). Fatigue des sols et cultures céréalières et fourragères. In: *La fatigue des sols. Diagnostic de la fertilité dans les systèmes culturaux*. Ed: INRA Paris. 37-43.

Bonanomi G., Antignani V., Pane C., Scala F., (2007). Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *J Plant Pathol* 89:311–324.

Borek V., Morra M.J., (2005). Ionic thiocyanate production from 4-hydroxybenzyl glucosinolate contained in *Sinapis alba* seed meal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8650-8654.

- Bossio D.A., Scow K.M., Gunapala N., Graham K.J., (1998).** Determinants of soil microbial communities: effects agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microbial Ecology*, 36: 1-12.
- Bouhot D., (1980).** Le potentiel infectieux des sols (Soil infectivity). *Thèse doctorat ès sciences*. Université de Nancy I. France. 143 pp.
- Bouhot D., (1983).** La fatigue des sols. Position du probleme et principe du diagnostique. *23 Colloque de la Societe Francaise de Phytopatologie*. INRA, París, 9-22.
- Bowers J.H., Papavizas G.C., Johnston S.A., (1990).** Effect of soil temperature and soil-water matrix potential in the survival of *Phytophthora capsici* in natural soil. *Plant. Dis.*, 74: 771-777.
- Bretones F., (2003).** El enarenado. En técnicas de producción en cultivos protegidos (Coord.: F. Camacho Ferre), Vol I: 109-118. Edita Caja Rural Intermediterránea, Cajamar, Instituto de estudios Cajamar.
- Brierley W.B., Jewson S.T., (1927).** The quantitative study of soil fungi. *Proceedings of the 1st International Congress of Soil Science*, 3: 48-71.
- Broders K.D., Lipps P.E., Paul P.A., Dorrance A.E., (2007).** Characterization of *Pythium* spp. associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. *Plant Disease* 91: 727-735.
- Brown P.D., Morra J.A., (1997).** Control of soil-borne plant pests using glucosinolate containing plants. *Adv. Agronom*, 61: 167-231.
- Burges A., (1960).** *Microorganisms in the soil*. Ed: The Hutchinson and Company. London. England (Versión española: BURGES A. 1960. Introducción a la *microbiología del suelo*. (Ed.) Editorial Acribia. Zaragoza. Traducción: Andrés Suárez Suárez).
- Burgess J.L., Morrissey B., Keifer M.C., Roberston W.O., (2000).** Fumigant related illnesses: Washington states five years experience. *Journal of Toxicology, Clinical Toxicology*, 38: 7-14.
- Buyer J.S., Roberts D.P., Russek-Cohen E., (1999).** Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed type. *Canadian Journal of Microbiology* 45: 138-144.
- Cajamar., (2004).** *El modelo económico en Almería basado en la agricultura intensiva*. (Ed) Caja Rural Intermediterránea. Cajamar Pg 4. En:
<http://www.fundaciontecnova.com/upload/modelo%20agricola%20almeriense.pdf>

- Cajamar., (2012).** *Análisis de la campaña hortofrutícola de Almería. Campaña 2011-2012.* Informes y monografías (Ed) Fundación Cajamar. En: <http://www.publicacionescajamar.es/pdf/series-tematicas/informes-coyuntura-analisis-de-campana/analisis-de-la-campana-hortofruticola.pdf>
- Calderón L., Solís F., Trabanino E., Barillas E., García E., (2000).** The effect of alternative treatments as methyl bromide for nematode control in different crops: 1998-1999. Abstract. XXXII Annual Meeting of ONTA, 16-20 abril, Auburn, Alabama, O-7, 48.
- Calvert G.M., Talaska G.M., Mueller C.A., Ammenheuses M., Audrey W.W., Fajen J.M., Fleming L.E., Briggie T., Ward E., (1998).** Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. *Mutation-Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 417: 115-128.
- Camacho F., (1998).** “El cultivo de la sandía en el Levante de Almería”. Técnicas de producción de frutas y hortalizas en los cultivos protegidos del Sureste español. En imprenta.
- Camacho F., (2004).** *Cultivos intensivos en la Provincia Almeriense.* Equipo de Ciencias Naturales “Los Filabres”. Almería, España.
- Camacho Ferre F., Fernández Rodríguez E.J., (2000).** El cultivo de sandía apirena injertada, bajo invernadero, en el litoral mediterráneo español. Edita: Caja Rural de Almería.
- Camacho F., (Coord) et al., (2003).** *Técnicas de producción en cultivos protegidos.* Tomo 1. (Ed) Ediciones Agrotécnicas S.L. Cajamar, Almería. 111.
- Castro Lizazo I., Díez Rojo M.A., López-Pérez J.A., Díaz L., Bello A., (2011).** Biodesinfección de Suelos en Producción Agrícola. Dossier SEAE, 1ª edición.
- Cebolla V., Bartual R., Busto J., Giner A., (2002).** New chemicals as posible alternatives to metyl bromire in the area of Valencia: preliminary results. *Acta Hortic.* 567, 435-438.
- Cebolla V., Maroto J.V., (2004).** La desinfección como medio de control de la fatiga del suelo. *Comunitat Valenciana Agraria*, 26: 21-26.
- Cenis J.L., (1991).** Control de hongos del suelo mediante solarización. *Phytoma España* 30: 59-61.
- Cenis J. L., Fuchs P. (1988).** Efecto comparado de la solarización y el metam sodio en un cultivo de pimiento en invernadero. *ITEA*, 75: 21-38.
- Chan M.Y.K., Close R.C., (1987).** Aphanomyces root rot of peas. 3. Control by the use of cruciferous amendments. *N.Z.J.Agric.Res.* 30: 225-233.

- Chavarría-Carvajal J.A., Rodríguez-Kabána R., (1998).** Changes in soil enzymatic activity and control of *Meloidogyne incognita* using four organic amendments. *Nematronica*, 28: 7-18.
- Chellemi D.O., Mirusso J., (2004).** An apparatus to inject soil fumigants under raised, plastic mulched beds. *Apply Eng. Agrí.* 20, 585-589.
- Coelho L., Chellemi D. O., Mitchell D.J., (1999).** Efficacy of solarization and cabbage amendment for the control of *Phytophthora* spp. in North Florida. *Plant Dis.* 83:293-299.
- Cohen M.F., Yamasaki H., Mazzola M., (2005).** Brassica napus seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of *Rhizoctonia* root rot. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1215-1227.
- Cook R., Bakker K., (1989).** *The nature of practice of biological control of plant pathogens.* 2nd ed. USA, 539 pp.
- Cooke R.C., Whipps J.M., (1980).** The evolution of modes of nutrition of fungi parasitic on terrestrial plants. *Biological reviews*, 55: 341-362.
- Cookson W.R., Beare M.H., Wilson P.E., (1997).** Effects of prior crop residue management on microbial properties and crop residue decomposition. *Applied soil Ecology* 7 (1998) 179-188.
- Coon K.L., Lazarovits G., (2000).** Soil factors influencing the efficacy of liquid swine manure added to soil to kill *Verticillium dahlia*. *Can. J. Plant Pathology*, 22: 400-406.
- Coyner M., (2000).** *Microbiología del Suelo: Un Enfoque Exploratorio. Editorial Paraninfo.* Madrid.
- Curl E. A., Truelove B., (1985).** *The rizosphere*, Springer, New York.
- Dalal R.C., (1998).** Soil microbial biomass- what do the numbers really mean? *Australian Journal Experimental Agriculture*, 38: 649-665.
- De Cara M., Diáñez F., Estrada F. S., Montoya S., Téllez E. J., Santos M., Tello J., (2004).** Presencia del patotipo 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* en suelos cultivados de melón en el estado de Colima (Méjico). *Bol. San. Veg. Plagas*, 30: 713-720.
- De Cara M., Diáñez F., Santos M., Fernández E., Tello J., Estrada F., Montoya S. (2006).** Presence of *Fusarium oxysporum* f.sp *melonis* Race 1 in soils cultivated with Melon in the State of Colima (Mexico). *Geomicrobiology Journal*, 23 (5), 319-322.

- De Cara M., (2007).** Los agentes incitantes del colapso del melón (*Cucumis melo* L.) en suelos cultivados de España, Guatemala, Honduras y México. Metodología sobre identificación y patogénesis. *Tesis Doctoral*. Universidad de Almería, 279 pp.
- Diáñez F., (2005).** Evaluación de la capacidad supresora de la microbiota bacteriana y fúngica del compost de orujo de vid frente a hongos fitopatógenos. Tesis doctoral. Departamento de producción vegetal. Universidad de Almería. 276 pp.
- Diáñez F., Criado J., Santos M., De Cara M., Martínez R., Segura I., García A., Chebaani M., Bello A., Avilés M., Tello J.C., (2013).** Control of *Phytophthora capsici* by biofumigation. IOBC WPRS Bulletin. *Colloque International Lutte Intégrée Cultures Prtegées Climat Méditerranéen*. Agadir, Marruecos, 150-151.
- Dick M.W., (1990).** Keys to *Pythium*. Department of Botany, School of Plant Sciences, University of Reading, Reading, U.K. 64 pp
- Díez Rojo M.A., Bello A., Escuer M., López Pérez J.A., García Álvarez A., (2006).** Nematodos Fitoparásitos Encontrados en Castilla y León. Alternativas no Químicas de Control. MAPA, Madrid, 254 pp.
- Díez Rojo M.A., López Pérez J.A., Arcos S.C., González López M.R., Robertson L., Guerrero M., Ros C., Lacasa A., Torres J.M., Cara de M., Tello J.C., Bello A., (2008a).** Soil biodisinfection as an alternative to soil fumigants. 5th International Congress Nematology, 13-18 July, Brisbane, Australia, 133p.
- Dommerges Y., Mangenot F., (1970).** *Ecologie microbienne du sol*. Ed. Masson et cie. Paris, 796 pp.
- Duniway J.M., (2002).** Status of chemical alternatives to methyl bromide for preplant fumigation of soil. *Phytopathology* 92: 1337-1343.
- Dunn R.A., Rich J.R., Baird R.E., (2006).** Site-specific management of plant-parasitic nematodes. In: Srinivasan, A. (Ed.), *Handbook of Precision Agriculture: Principles and Applications*. Haworth Press Inc, Binghamton, p. 256 (Chapter 8).
- Dutta B.K., Isaac I., (1979).** Effects of organic amendments to soil on the rhizosphere microflora of antirrhinum infected with *Verticillium dahliae* Kleb. *Plant and soil* 53: 99-103.
- Edgar R.C., (2004).** MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32: 1792-1797.

- Eger J.E., (2000).** Efficacy of Telone products in Florida Crops: a seven year summary. *In: International Research Conference on Methyl Bromide After natives and Emissions Reductions EPA*, Orlando (Florida) USA, 4-7 November. Proceedings: 7, 1-2.
- El Hadiri N., Ammati M., Chgoura M., Mounir K., (2003).** Behaviour of 1,3- dichloropropene and methyl isothiocyanate in undisturbed soil columns. *Chemosphere* 52: 893-899.
- Erwin D., Ribeiro O., (1996).** Diseases worldwide. Minnesota (USA). *American Phytopathological Society*, 562pp.
- Escuadra G., Amemiya Y., (2008).** Suppression of Fusarium wilt of spinach with compost amendments. *Plant Pathology*, 74: 267-274.
- Escuer M., Cano A., Bello A., (2004).** Nematodos fitoparásitos de la región de Murcia y alternativas de control. Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. Segunda jornada sobre alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero, Murcia, España, 27-57pp.
- Fernández P., Guirao P., Ros C., Guerrero M. M., Quinto V., Lacasa A., (2004).** Efecto de la biofumigación con solarización sobre las características físicas y químicas del suelo. En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.). Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 259-278.
- Fernández C., Rodríguez-Kábana R., Kloepper J.W., (2000).** Approaches to measuring microbial contributions to soil suppressiveness by measuring soil enzymes. Abstract. XXXII Annual Meeting of ONTA, 16-20 April, Auburn, Alabama, W-1, 20.
- Ferrera-Cerrato R., y Pérez-Moreno J., (1995).** Agromicrobiología, elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados en [Ciencias](#) Agrícolas, Montecillo, Estado de México. pp: 36-50.
- Filion M., St-Arnaud M., Fortin J.A., (1999).** Direct interaction between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and different rhizosphere microorganisms. *New Phytol.* 141: 525–533.
- Flanagan P.W., (1981).** Fungal taxa, physiological groups and biomass: a comparison between ecosystems. In the fungal community, D. T. Wicklow, and G. C. Carroll (eds.). Marcell Dekker, Nueva York p. 569-592.
- Frazier W.C., Westhoff D.C., (1978).** *Microbiología de los alimentos*. 3ª ed. Acribia, Zaragoza, 522 pp.

- Frenzel B., (1960).** Zur Atiologie der Anreicherung von Animosarum und Amiden im Wurzelraum von *Helianthus annuus*. *Planta*, 55-169.
- Gamliel A., Katan J., (1992).** Influence of seed and root exudates on fluorescent pseudomonads and fungi in solarized soil. *Phytopathology* 82: 320-327.
- Gamliel A., Katan J., (1993).** Suppression of major and minor pathogens by fluorescent pseudomonads in solarized and nonsolarized soils. *Phytopathology* 83: 68-75.
- Gamliel A., Stapleton J.J., (1993a).** Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. *Phytopathology* 83: 899-905.
- Gamliel A., Austerweil M., Kritzman G., (2000).** Non-chemical approach to soilborne pest management-organic amendments. *Cop Prot.* 19:847-853.
- Gamliel A., Stapleton J.J., (1993).** Effect of soil amendment with chicken compost or ammonium phosphate and solarization on pathogen control, rhizosphere microorganisms and lettuce growth. *Plant Disease*, 77: 886-891.
- García P.A., Santamaría C., Ruiz J.C., Daza A., (2004).** Efecto beneficioso de la agricultura ecológica sobre los microorganismos del suelo. *En: VI Congreso Nacional de la SEAE*. Almería, 14-18 octubre. Resúmenes: 173.
- García Álvarez A., Arias M., Díez-Rojo MA., Bello A., (2004a).** Effect of agricultural management on soil nematode trophic structure in a mediterranean cereal system. *Applied Soil Ecology* 27, 197-210.
- García Álvarez A., Bello A., Sanz R., Piedra A., Díez-Rojo M.A., (2004b).** Biofumigation as an alternative to methyl bromide for the production of tomatoes and other vegetables. In: TA Batchelor, F Alfarroba (Eds). *Fifth International Conference on Alternatives to Methyl Bromide*, 27-30 septiembre 2004, Lisboa, Portugal, 171-175.
- García-Jiménez J., Martínez-Ferrer G., Armengol J., Velázquez M^a T , Orts M., Juárez M., Ortega A., Jordá M^a C., Alfaro A., (1993).** Agentes asociados al <colapso del melón> en distintas zonas españolas. *Bol. San. Veg. Plagas*, 19:401-423.
- Gardner W. K., Parbery G. D., Barber D. A., Swinden L., (1983).** The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L.V. The difusion of exudates away from roots: a computer simulation, *Plant and Soil*, 72: 13.

- Garret S.D., (1956).** *Biology of root-infesting fungi*. Ed. Cambridge University Press.
- Garret S.D., (1970).** *Pathogenic Root-Infesting Fungi*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 294pp.
- Garbeva P., Van Veen J.A., Van Elsas J.D., (2004).** Microbial diversity in soil: selection microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology*, 42: 243-270.
- Gelsomino A., Keijzer-Wolters A., Cacco G., Van Elsas J.D., (1999).** Assesment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Microbiological Methods* 38: 1-15.
- George E., Marschner H., Jakobsen I., (1995).** Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorous and nitrogen from soil. *Crit. Rev. Biotechnol.* 15, 257–270.
- Gerlach W., Nirenberg H., (1982).** *The genus Fusarium, a pictorial atlas*. Mitt. Biol. Bundesanst. Land Forstwirtschaft. Berl. *Dahlem*, 209: 1-406.
- Giller K.E., Beare M.H., Lavelle P., Izac A.-M.N., Swift M.J., (1997).** Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Appl. Soil Ecol.* 6: 3 –16.
- Gilreath J.P., Noling J.W., Santos B.M., (2004a).** Methyl bromide alternatives for bell pepper (*Capsicum annuum*) and cucumber (*Cucumis sativus*) rotations. *Crop Prot.* 23, 347-351.
- Gilreath J.P., Santos B.M., Gilreath P.R., Jones J.P., Noling J.W., (2004b).** Efficacy of 1,3-dichloropropene plus chloropicrin application methods in combination with pebulate and napropamide in tomato. *Crop Protection* 23: 1187-1191.
- Gilreath J.P., Santos B.M., (2008).** Managing weeds and nematodes with combinations of methyl bromide alternatives in tomato. *Crop Protection* 27: 648-652.
- Gindrat D., Varady C., Neury G., (1983).** Le dépérissement de l'asperge en Suisse romande. In: *La fatigue des sols. Diagnostic de la fertilité dans le systèmes culturaux*. Ed: INRA Paris. 51-55.
- Girvan M.S., Bullimore J., Pretty J.N., Osborn A.M., Ball A.S., (2003).** Soil type or the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. *Applied and Enviromental Microbiology* 69, 1800-1809.
- Grant W.D., Long P.E., (1989).** *Microbiología Ambiental*. Edit. Acribia. Zaragoza, España, 222p.

- Greco N, D'Addabbo T, Brandonisio A, Zweep A. 1990.** Combined effect of soil solarization and 1,3-D for the control of *Heterodera carotae*. *Nematol. medit.* 18, 261-264.
- Greenberger A., Yogev A, Katan J, (1987).** Induced suppressiveness in solarized soils. *Phytopathology* 77: 1663-1667.
- Guerrero M.M., Lacasa A., Ros C., M.A., Guirao P., Barceló N., Martínez M.C., Bello A., Fernández P., Quinto V., (2003).** Eficacia de la biofumigación con solarización reiterada en los suelos de invernaderos para cultivo ecológico de pimiento. En: X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas, Pontevedra, 26-30 Mayo. *Actas de Horticultura*, 39: 33-35.
- Guerrero M.M., Lacasa A., Ros C., Bello A., Martínez M.C., Torres J., Fernández P., (2004).** Efecto de la biofumigación con solarización sobre los hongos del suelo y la producción: fechas de desinfección y enmiendas. En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina, J.A. Mora (Eds). *Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. Publicaciones de la consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas 16*, 209-238.
- Guillemat J., Montegut J., (1956).** Contribution a l'étude de la microflore fongique dans les sols cultivés. *Anns. Des Epiphyties*, 8: 185-207.
- Guirao P., Guerrero M.M., Ros C., Lacasa A., Beltrán C., Martínez M.C., Torres J., Oncina M., Contreras J., (2004).** La reducción de dosis de bromuro de metilo en el cultivo de pimiento y el calendario de retirada. *En: A. Lacasa, M.M.*
- Gullino M.L., (2000).** Status of methyl bromide alternatives for soil fumigation in Southern Europe. In: *Methyl bromide alternatives for North African and Southern European countries.* Eds. UNEP, pp. 87-92.
- Gullino M.L., Camponogara A., Gasparrini G., Rizzo V., Clini C., Garibaldi A., (2003).** Replacing methyl bromide for soil disinfection. The Italian experience and implications for other countries. *Plant Disease*, 87: 1012-1021.
- Hansen Z., Keinath A., (2013).** Increased pepper yields following incorporation of biofumigation cover crops and the effects on soilborne pathogen populations and pepper diseases. *Appl Soil Ecol* 63:67-77.
- Harder D.B., Capeless C.G., Maggio J.C., Boughter J.D., Gannon K.S., (1992).** Intermediate sucrose octa-acetate sensitivity suggests a third allele at mouse bitter taste locus *Soa* and *Soa-Rua* identity. *Chem Senses*, 17: 391-401.

- Harley J.L., Waid J.S., (1955).** The effect of light upon the roots of beech and its surface population. *Plant and Soil*, 7: 96-112.
- Hernández A., (2011).** Efecto de la biosolarización con pellets de *Brassica Carinata* y estiércol fresco de ovino sobre la Capacidad infectiva y sobre la viabilidad de Oosporas de *Phytophthora capsici*. Máster Universitario en Técnicas Avanzadas en Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario. Universidad de Cartagena.
- Hoitink H.A.J., Boehm M.J., (1999).** Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annual Review Phytopathology*, 37: 427- 446.
- Jackson T.M., (1960).** Soil fungistasis and rhizosphere. In: Parkinson, D., Waid, J.S. (eds.). *The ecology of soil fungi*. Liverpool University Press, England.
- Janvier C., Villeneuve F., Alabouvette C., Edel-Hermann V., Mateille T., Steinberg C., (2007).** Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? *Soil Biology Biochemistry*. 39: 1-23.
- Ji X., Qiao K., Dong S., Wang H., Xia X., Wang K., (2013).** Effect of 1,3-dichloropropene plus chloropicrin on weed seed germination. *Crop Prot.* 45, 1-5.
- Jiménez M.A., Ulacio D., Perdomo W., Briceño E., (2009).** Microbiota y Nematodos asociados con la rizosfera y raíz en el cultivo de Ajo (*Allium sativum L.*). *Bioagro*, 21 (3): 209-216.
- Johanson F., Paul L., Finlay R., (2004).** Microbial interactions in the microrrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology*, 48: 1-13.
- Johson M.J., Lee K.Y., Scow K.M., (2003).** DNA fingerprinting reveals links among agricultural crops, soil properties, and the composition of soil microbial communities. *Geoderma*, 144: 279-303.
- Jordan V.W.L., Sneh B., Eddy B.P., (1972).** Influence of organic amendments on *Verticillium dahliae* and on the microbial composition of the strawberry rhizosphere. *Annals of Applied Biology* 70: 139-148.
- Juarez-Palacios C., Felix-Gastelum R., Wakeman R.J., Paplomatás E.J., DeVay J.E., (1991).** Thermal sensitivity of three species of *Phytophthora* and the effect of soil solarization on their survival. *Plant Dis.* 75, 1160e1164.
- Juo P., Stotzky G., (1970).** Electrophoretic separation of proteins from roots and root exudates. *Canadian Journal of Botany*, 48: 713.

- Katan J., (1980).** Solar pasteurization of soils for disease control; status and prospects. *Plant Disease* 64: 450-454.
- Katan J., (1981).** Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. *Annual Review of Phytopathology* 19: 211-236.
- Katan J., (2005).** Soil disinfection: One minute before Methyl Bromide phase out. *Proceedings of the 11th International Symposium on Chemical and Non-Chemical Soil and Substrate Disinfection. Acta Horticulturae*, 698: 19-25.
- Katan J., Fishler G., Grinstein A., (1983).** Short- and Long-term effects of soil solarization and crop sequence on fusarium wilt and yield of cotton in Israel. *Phytopathology* 73: 1215-1219.
- Katan J., Greenberger A., Alon H., Grinstein A., (1976).** Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soilborne pathogens. *Phytopathology* 66: 683-688.
- Keinath A.P., (1996).** Soil amendment with cabbage residue and crop rotation to reduce gummy stem blight and increase growth and yield of watermelon. *Plant Disease* 80: 564-570.
- Khlaif H., (2003).** Effect of soil solarization on total *Agrobacterium* spp. population, inoculated *Agrobacterium tumefaciens*, and on the development of crown gall. *Journal of Plant Pathology* 85: 117-122.
- Kirk P., Cannon P.F., Minter D.W., Stalpers J.A., (2008).** *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 10th edn. CAB International, Wallingford, UK.
- Kirkegaard J.A., Akiew S., Pattison T., Young A., Prior L., (2008).** Understanding mechanism of plant pest suppression using *Brassica* green manures. *Proceedings of 3th Int. Biofumigation Symposium*. Canberra, Australia, 21-25 Jul., 21 p.
- Kirkegaard J.A., Angus J.F., Gardner P.A., Cresswell H.P., (1993a).** Benefits of brassica break crops in the Southeast wheatbelt. *Proc. 7th Aust. Agron. Cons.* Adelaide, 19-24 Sept, 282-285.
- Kirkegaard J.A., Gardner P.A., Angus J.F., Koetz E., (1994).** Effect of Brassica crops on the growth and yield of wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 45, 529-545.
- Kirkegaard J.A., Gardner J., Desmarchelier J.M., Angus J.F., (1993b).** Biofumigation using *Brassica* species to control pest and diseases in horticulture and agriculture. *In: N Wraether, RJ Mailes (Eds).* Proc. 9th Australian Research Assembly on Brassicas (*Wagga Wagga*) 77-82.

- Kirkegaard J.A., Sawar M., (1998).** Biofumigation potential of Brassicas. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown Brassicas. *Plant and Soil* 201, 71-89.
- Kjaer A., (1976).** Glucosinolates in cruciferae. In: J.G.Vaughan, A.J.Macleod, B.M.G.Jones (Eds). *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, Academic Press, London, 207-219.
- Kloepper J.W., Leong J., Teintze M., Schroth M.N., (1980a).** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.
- Kloepper J.W., Lifshitz R., Zablotowicz R.M., (1989).** Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnology* 7: 39-44.
- Kloepper J.W., Schroth M.N., Miller T.D., (1980b).** Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology* 70: 1078-1082.
- Kluepfel D.A., (1993).** The behavior and tracking of bacteria in the rhizosphere. *Annual Review of Phytopathology*, 31: 441-472.
- Lacasa A., Guirao P., (1997).** Investigaciones actuales sobre alternativas al uso del bromuro de metilo en pimiento de invernadero. En: A. López, J.A. Mora. (eds.) *Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia. Jornadas, 11: 21-36.
- Lacasa A., Guirao P., Guerrero M.M., Ros C., López-Pérez J.A., Bello A., Bielza P., (1999).** *Alternatives to methyl bromide for sweet pepper cultivation in plastic greenhouses in south east*. 3rd International Workshop Alternatives to Methyl Bromide for Southern European Countries. 7-10 December, Crete (Grecce), 133-135.
- Lacasa A., Guerrero MM, Oncina, Mora M, JA, (2004).** *Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*, vol.16. (Murcia: Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua).
- Lacasa A., Guerrero M. M., Ros C., Guirao P., Torres J., Bielza P., De Paco T., Contreras J., Molina R., Torné M. (2002).** Desinfección del suelo en invernaderos de pimiento con dicloropropena + cloropicrina (Telopic EC). Dosis de aplicación y efectos de plástico sellado. *Agrícola Vergel*, 245: 256-266.
- Laita J., (1998).** El metam sodio como alternativa al bromuro de metilo en cultivos hortícolas. En: *Alternativas al bromuro de metilo en agricultura*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Serie Congresos y Jornadas. 44/97: 99-101.

- Laita J., (2000).** Cuatro años de experimentación con metam sodio como alternativa al bromuro de metilo. *Phytoma España*, 122:52-54.
- Larkin R.P., Fravel D.R., (1998).** Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Disease*, 82:1022-1028.
- Larkin R.P., Fravel D.R., (1999).** Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of Fusarium wilt of tomato by nonpathogenic Fusarium spp. *Phytopathology*, 89:1152-1161.
- Larkin R.P., Hopkins D.L., Martin F.N., (1993).** Ecology of Fusarium oxysporum f.sp. niveum in soils suppressive and conducive to Fusarium wilt of watermelon. *Phytopathology*, 83:1105-1116.
- Larkin R.P., Hopkins D.L., Martin F.N., (1996).** Suppression of Fusarium wilt of watermelon by nonpathogenic Fusarium oxysporum and other microorganisms recovered from a disease-suppressive soil. *Phytopathology*, 86:812-819.
- Lazarovits G., Tenuta M., Conn K.L., (2001).** Organic amendments as a disease control strategy for soilborne diseases of high-value agricultural crops. *Australasian Plant Pathology* 30: 111-117.
- Lazarovits G., Conn K.L., Abbasi P.A., Tenuta M., (2005).** Understanding the mode of action of organic soil amendments provides the way for improved management of soilborne plant pathogens. *Acta Hortic.* 689, 215-224.
- Lazcano C., Gómez M., Arnold J., Tato A., Domínguez J., Mato S., (2004).** Compostaje y vermicompostaje de estiércol de vacuno. En: *Agrícola Española* (Eds.). Conference book, I Internacional Conference on Soil and Compost Eco- Biology, 15-17 September 2004, León, España. p. 293.
- Lazzeri L., Leoni O., Manici L.M., (2004).** Biocidal plant dried pellets for biofumigation. *Industrial Crops and Products* 20: 59-65.
- Lazzeri L., Manici L.M., (2000).** The glucosinolate-myrosinase system: A natural and practical tool for biofumigation. *Acta Hortic.* 532, 89-95.
- Leclerc M., Doré T., Gilligan C.A., Lucas P., Filipe J.A.N., (2013).** Host Growth Can Cause Invasive Spread of Crops by Soilborne Pathogens. *PLoS ONE* 8(5): e63003. doi:10.1371/journal.pone.0063003

- Lemanceau P., (1988).** Receptivité des sols aux fusarioses vasculaires: étude critique des theories proposées. Thèse Doct. Uni. Claude Bernard, Lyon I, Lyon 99 pp.
- Lemanceau P., Alabouvette C., (1993).** Suppression of Fusarium-wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications. *Biocontrol Science and Technology* 3: 219–234.
- Lemanceau P., Alabouvette C., Couteadier Y., (1988).** Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XIV Modification du niveau de réceptivité d'un sol résistant et d'un sol sensible aux fusarioses vasculaires en réponse à des apports de fer ou de glucose. *Agronomie*, 8: 155-162.
- Liljeroth E., Baath E., (1988).** Bacteria and fungi on roots of different barley (*Hordeum vulgare* L.). *Biology and Fertility of Soils*, 7: 53.
- Locascio S. J., Dickson D. W., (2001).** Alternative fumigants applied with PE and VIF mulches for tomato. In: *Annual International Research Conference on Methyl Bromide alternatives and Emissions reduction*. San Diego, California, USA, 5-9 November. Abstract, 17: 1-3.
- Lockwood J.L., (1977).** Fungistasis in soil. *Biological Review*, 52: 1-43.
- Lockwood J.L., (1988).** Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 93-121.
- López-Martínez N., Castillo S., Cuaresma IM., Carmona I., González-Zamora JE., Avilla C., López-medina J., Aguirre I., (2004).** Efecto de la biofumigación sobre la flora arvensis del fresón. Actas IV Congreso SEAE, 27 de Septiembre- 2 de Octubre, Almería, 1531-1539.
- Loper J.E., Suslow T.V., Schroth M.N. (1984).** Lognormal distribution of bacterial populations in the rhizosphere. *Phytopathology*, 74 (12): 1.454-1.460.
- Louvet J., Alabouvette, (1988).** Les conditions de développement du parasitisme racinaire. *Phytoma*, 402: 32-34.
- Lumsden R.D., Ayers W.A., (1975).** Influence of soil environment on the germinability of constitutively dormant oospores of *Pythium ultimum*. *Phytopathology*, 65: 1101-1107.
- Lumsden R.D., Lewis J.A., Papavizas G.C., (1983).** Effect of organic amendments on soilborne plant diseases and pathogen antagonists. In *Environmentally Sound Agriculture*. Ed. W Lockeretz. pp. 51–70. Praeger Scientific, New York.

- Lynch J.M., Panting L.M., (1980).** Variation in the size of soil biomass. *Soil Biology Biochemistry*, 12: 547–550.
- Manici L.M., Caputo F., Babini V., (2004).** Effect of green manure on *Pythium* spp. population and microbial communities in intensive cropping systems. *Plant and Soil* 263, 133e142.
- Manici L.M., Lazzeri M., Baruzzi G., Leoni O., Galleti S., Palmieri S., (2000).** Suppressive activity of some glucosinolate enzyme degradation products on *Pythium irregular* y *Rhizoctonia solani* in sterile soil. *Pest Manag. Sci.* 56: 921-926.
- Mansoori B., Jalani N.K.H., (1996).** Control of soilborne pathogens of watermelon by solar heating. *Crop protection* 15: 423-424.
- Märder P., FlieBbach A., Dubois D., Gunst L., Fried P., Niggli U., (2002).** Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296: 1694-1697.
- Marín-Guirao J.I., Boix Ruiz A., Ruiz Olmos C., Vargas Vargas A., Martínez Beltrán C.D., Díaz Pérez M., Tello Marquina J.C., Camacho Ferre F., (2012).** Efecto de diferentes materias orgánicas en suelo arenado sobre la producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* cv. Amilda). En: Actas X Congreso de la Sociedad Española de Agricultura ecológica, Albacete 26 septiembre- 29 septiembre.
- Maroto J.V., (1989).** Aproximación a un Análisis Descriptivo de los Sistemas de Producción Agrarios en las Comarcas Valencianas. Generalitat Valenciana, Consellería d’Agricultura i Pesca, Centro Editorial de Servicios y Publicaciones Universitarias, Valencia, 794pp.
- Maroto J.V., (1990).** Elementos de horticultura general. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 343 pp.
- Maroto, J.V., 1996.** Horticultura herbácea especial. 4ª edición. Ed. Mundi-Prensa.
- Martínez, M.A., Guerrero, M.M, Martínez, M.C., Barcelo N., Ros C., Lacasa A., Tello J., (2004).** Efecto de la biofumigación con solarización reiterada sobre la microbiota fúngica de la rizosfera del pimiento. En: Actas de VI Congreso de la Sociedad Española de Agricultura ecológica, Almería 27 septiembre- 2 octubre. Resúmenes:93.
- Martínez Francés MªA., Lacasa Plasencia A., Tello Marquina J.C. (2009).** Ecología de la microbiota fúngica de los suelos de los invernaderos de pimiento y su interés agronómico. Ministerio de Medioambientey Medio Rural y Marino. España

- Martinez M.A., Martínez M.C., Bielza P., Tello J., Lacasa A., (2011).** Effect of Biofumigation with manure amendments and repeated biosolarization on *Fusarium* densities in pepper crops. *J Industrial Microbiol Biotechnol*, 38: 3-11.
- Martyn R.D., (1986).** Use of soil solarization to control fusarium wilt of watermelon. *Plant Disease* 70: 762-766.
- Matthiessen J.N., Kierkegaard J.A., (1993).** Biofumigation, a new concept for “clean and green” pest and disease control. *Western Australian Potato Grower* October, 14-15-
- Matthiessen J.N., Kirkegaard J.A., (2006).** Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soilborne pest and disease management. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25: 235-265.
- Mazzola M., (2004).** Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression. *Annual Review of Phytopathology* 42:35-59
- Mazzola M., Reardon C.L., Brown J., (2012).** Initial *Pythium* species composition and Brassicaceae seed meal type influence extent of *Pythium*-induced plant growth suppression in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 48: 20-27.
- MBTOC. (1997).** Report of the technology and economic assessment panel. United Nations Environmental Program, Nairobi, (Kenia), 221 pp.
- MBTOC. (1998).** Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. Assessment of Alternatives to Methyl Bromide, UNEP, Nairobi (Kenia), 354 pp.
- MBTOC, (2007).** Report of the Methyl bromide technical options committee. In: 2006 Assessment, United Nations Environment Programme, Nairobi, p. 108.
- Meharg A.A., Killham K., (1991).** A novel method of determining root exudates in the presence of soil microflora. *Plant and Soil*, 133: 111.
- Meharg A.A., Killham K., (1995).** Loss of exudates from the roots of perennial ryegrass inoculated with a range of microorganisms. *Plant and Soil*, 170: 345.
- Minuto A., Gullino M.L., Lamberti F., Daddabbo T., Tescari E., Ajwa H., Garibaldi A., (2006).** Application of an emulsifiable mixture of 1,3-dichloropropene and chloropicrin against root knot nematodes and soil-borne fungi for greenhouse tomatoes in Italy. *Crop. Prot.* 25, 1244-1252.

- Mojtahedi H., Santo G.S., Hang N.A., Wilson J.H., (1991).** Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure. *J. Nematol.* 23: 170-174.
- Molin J., Molin S., (1997).** CASE: complex adaptive systems ecology. In: Jones, J.G. (Ed.), *Advances in Microbial Ecology*, vol. 15. Plenum, New York, pp. 27–79.
- Motisi N., Dore T., Lucas P., Montfort F., (2010).** Dealing with the variability in biofumigation efficacy through an epidemiological framework. *Soil Biol Biochem* 42:2044–2057
- Mowlick S., Inoue T., Takehara T., Kaku N, Ueki K., Ueki A., (2013).** Changes and recovery of soil bacterial communities influenced by biological soil disinfestation as compared with chloropicrin-treatment. *AMB Express*, 3:46.
- Navrozidis E., Zartaloudis Z., Thomidis E., Karagiannidis N., Roubos K., Michailides Z., (2007).** Effect of Soil Plowing and Fertilization on the Susceptibility of Four Olive Cultivars to the Insect *Bactrocera oleae* and the Fungi *Sphaeropsis dalmatica* and *Spilocaea oleagina*. [*Phytoparasitica*](#), 35: 429-432.
- Neeraj , Singh K., (2011).** Organic amendments to soil inoculated arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* treatments reduce the development of root-rot disease and enhance the yield of *Phaseolus vulgaris* L. *European Journal of Soil Biology*, 47: 288-295.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O.L., (1983).** *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State, University Press, University Park, p. 39-48.
- Nelson P.E., Wilhelm S., (1956).** Some anatomic aspects of the strawberry root. *Hilgardia*, 26: 631.
- Njoroge S.M.C., Riley M.B., Keinath A.P., (2008).** Effect of incorporation of Brassica spp. residues on population densities of soilborne microorganisms and on dampingoff and Fusarium wilt of watermelon. *Plant Dis.* 92, 287–294.
- Noling J.W. Becker J.O., (1994).** The challenge of research and extension to define and implement alternatives to methyl bromide. *J. Nematol.* 26, 573-586.
- Núñez-Zofío M., Larregla S., Garbisu C., (2011).** Application of organic amendments followed by soil plastic mulching reduces the incidence of *Phytophthora capsici* in pepper crops under temperate climate. *Crop Prot* 30: 1563-1572.

- Núñez-Zoffío M., Larregla S., Garbisu C., (2012).** Repeated biodisinfection controls the incidence of *Phytophthora* root and crown rot of pepper while improving soil quality. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2012 10(3): 794-805.
- Ochiai N., Powelson M., Crowe F., Dick R., (2008).** Green manure effects on soil quality in relation to suppression of *Verticillium* wilt of potatoes. *Biol Fertility Soils* 44:1013–1023.
- Ogunseitan, O., 2005.** *Microbial Diversity*. Blackwell Science Ltd., Oxford, UK, 292pp.
- Ohr H.D., Sims J.J., Grech N.M., Becker J.O., (1996).** Methyl iodide, an ozonesafe alternative to methyl bromide as a soil fumigant. *Plant Disease* 80: 731-735.
- Omirou M., Rousidou C., Bekris F., Papadopoulou K.K., Menkissoglou- Spiroudi U., Ehaliotis C., Karpouzas D.G., (2011).** The impact of biofumigation and chemical fumigation methods on the structure and function of the soil microbial community. *Microb Ecol* 61:201–213
- Onta, Organization of Nematologist of Tropical America, (2000).** Auburn, Alabama USA. 47-51pp
- O'Donnell A.G., Seasman M., Macrae A., Waite I., Davies, J.T., (2001).** Plants and fertilisers as drivers of change in microbial community structure and function in soils. *Plant Soil* 232, 135– 145.
- Pane C., Spaccini R., Piccolo A., Scala F., Bonanomi G., (2011).** Compost amendments enhance peat suppressiveness to *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*. *Biology Control*, 56: 115-124.
- Parkinson D., (1957).** New methods for the qualitative and quantitative study of fungi in the rhizosphere Symposium méthodes d'études microbiologiques du sol. Université catholique de Louvain. *Pedologi Gand*, 7:146–154.
- Parkinson D., Clarke J. H., (1961).** Fungi associated with the roots of *Allium*. *Plant and soil*, 13: 384-390.
- Parkinson D., Gray T.R.G., Williams S.T., (1971).** Methods for studying the ecology of soil microorganism. IBP Handbook nº19. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Parkinson D., Taylor G.S., Pearson R., (1964).** Studies on fungi in the root region I. The development of fungi on young roots. *Plant and soil*, 19(3): 332-348.
- Pelagatti O., Caroppo S., Ambrogioni L., Lamberti F., De Silva J., (1998).** Effect of methyl bromide on the soil microflora. *Nematologia Mediterranea*, 26: 77-89.

- Pelczar M.J., Reid R.D., Chan E.C.S., (1977).** *Microbiología*. 4ª ed. McGraw-Hill, Méjico, 826 pp.
- Peralta R.M., Ahn C., Gillevet P.M., (2013).** Characterization of soil bacterial community structure and physicochemical properties in created and natural wetlands. *Sci Total Environ* 443:725–732. doi:[10.1016/j.scitotenv.2012.11.052](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.052)
- Pérez J., Céspedes A., (2001).** *Análisis de la demanda de inputs para la producción en el sector de cultivos protegidos de Almería*. En: I. M. Cuadrado (Ed) Estudio de la demanda de inputs auxiliares: producción y manejo en el sistema productivo agrícola almeriense: 1-102. Fundación para la Investigación Agraria en la provincia de Almería. Almería, España.
- Pérez J., López J.C., Fernández M.D., (2002).** *La agricultura del sudeste: situación actual y tendencias de las estructuras de producción en la horticultura almeriense*: 262-282. En J. M. García (Coord.) Mediterráneo Económico: La Agricultura Mediterránea en el siglo XXI, Caja Rural Intermediterránea, Cajamar. Almería. España.
- Pérez-Piqueres A., Edel-Hermann V., Alabouvette C., Steinberg C., (2006).** Response of soil microbial communities to compost amendments. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 460-470.
- Piedra Buena A., (2004).** Agroecología de *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Nematoda: Heteroderidae) en cultivos hortícolas protegidos. Tesis doctoral, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Almería, España, 397 pp.
- Piedra Buena A., García-álvarez A., Díez-Rojo M.A., Bello A., (2006).** Use of crop residues for the control of *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions. *Pest Management Science* 62: 919-926.
- Piedra Buena A., García-Álvarez A., Díez-Rojo M.A., Ros C., Fernández P., Lacasa A., Bello A. (2007).** Use of pepper crop residues for the cntrol of root-knot nematodes. *Bioresource Technology* 98: 2846-2851.
- Pinkerton J.N., Ivors K.L., Miller M.L., Moore L.W., (2000).** Effect of soil solarization and cover crops on populations of selected
- Pitt J.I., (1979).** The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, New York.
- Pitt J. I., Hocking A. D., (1997).** *Fungi and food spoilage*, 2ª Ed. Chapman and Hall, Londres.
- Pochon J., Da Barjac H., (1958).** *Traité de microbiologie des sols*. Ed. DUNOD. Paris. 685 pp.

- Pocino S., (1997).** Metam sodio y metam potasio como alternativa al uso del bromuro de metilo. *En: A. López, J.A. Mora. (eds.) Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero.* Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Jornadas, 11: 37-40.
- Pocino S., (1998a).** Alternativas químicas al uso del bromuro de metilo. *En: Alternativas al bromuro de metilo en agricultura.* Serie Congresos y Jornadas. 44/97. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, 95-97.
- Pocino S., (1998b).** Metham sodium alternative to methyl bromide in Almería. *En: Bello, A. et al., (eds.) Alternatives to methyl bromide for the Southern European countries.* Editorial Phytoma. Valencia, 95-98.
- Ponnamperuma F.N., (1976).** Temperature and chemical kinetics of flooded soils. *Climate and Rice.* The International Rice Research Institute. Los Baños, Philippines.
- Preem J.K., Truu J., Truu M., Mander U., Oopkaup K., Loõhmus K., Helmisaari H.S., Uri V., Zobel M., (2012).** Bacterial community structure and its relationship to soil physico-chemical characteristics in alder stands with different management histories. *Ecolgy Eng* 49: 10–17. doi:10.1016/j.ecoleng.2012.08.034
- Prikryl Z., Vancura V., (1980).** Root exudates of plants: VI Wheat root exudation as dependent of growth, concentration gradient of exudates and the presence of bacteria. *Plant and Soil*, 57: 69.
- Pyrowolakis A., Westphal A., Sikora R.A., Becker J.O., (2002).** Identification of root-knot nematode suppressive soils. *Apply Soil Ecology*, 19: 51-56.
- Qiao K., Shi X., Ji X., Wang H., Ji X., Wang K., (2011).** Managing root-knot nematodes and weeds with 1,3-dichloropropene as an alternative to methyl bromide in cucumber crops in china. *Journal Agriculture Food Chemistry* 59, 2362-2367.
- Qiao K., Wang H., Shi X., Ji X., Wang K., (2010).** Effect of 1,3-dichloropropene on nematode, weed seed viability and soil-borne pathogen. *Crop Prot.* 29, 1305-1310.
- Qiu M., Zhang R., Xue C., Zhang S., Li S., Zhang N., Shen Q., (2012).** Application of bio-organic fertilizer can control Fusarium wilt of cucumber plants by regulating microbial community of rhizosphere soil. *Biolgy Fertilize Soils*, 48 :1–10

- Qiu W., Yan M., Hao Y., Zhizhou C., (2013).** Effect of biofumigation and chemical fumigation on soil microbial community structure and control of pepper *Phytophthora* blight.
- Raio A., Zoina A., Moore W., (1997).** The effect of solar heating of soil on natural and inoculated agrobacteria. *Plant Pathology*, 46: 320-328.
- Ramírez-Villapudua J., Munnecke D.E., (1987).** Control of cabbage yellows (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*) by solar heating of field soils amended with dry cabbage residues. *Plant Disease* 71: 217-221.
- Ramirez-Villapudua J., Munnecke D.E., (1988).** Effect of solar heating and soil amendments of cruciferous residues on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Conglutinans* and other organisms. *Phytopathology*, 78: 289-295.
- Raper K.B., Fennel D.I., (1977).** The genus *Aspergillus*. Edit. Williams and Wilkinson. Baltimore, MD.
- Rapper K. B., Fennel D. I., (1965).** *The genus Aspergillus*. Williams & Wilkins, Baltimore, 273 pp.
- Rasche F., Hödl V., Poll C., Kandeler E., Gerzabek M.H., Van Elsas J.D., Sessitsch A., (2006).** Rhizosphere bacteria affected by transgenic potatoes with antibacterial activities compared to the effects of soil, wild-type potatoes, vegetation stage and pathogen exposure. *FEMS Microbiology Ecology* 56, 219-235.
- Reche J., (1991).** *Enfermedades de hortalizas en invernadero*. M.A.P.A., Madrid, 189 pp.
- Reche J., (1994).** "Cultivo de la sandía en invernadero", coita, Almería.
- Reche J., (1996).** "Riego y abonado de la sandía en invernadero". Hortoinformación, 81. (4).
- Regalado R., Brito E., López-Cepero J., Bello A., (2006).** Efectos de la biofumigación con residuos de cultivo sobre un suelo de cultivo de tomate. CD de Comunicaciones del VII Congreso de la SEAE. 18-23 Septiembre 2006, Zaragoza. Nº 82.
- Ricci P., (1974).** Mesure de la densité d'inoculum d'un agent pathogène dans le sol à l'aide d'une technique d'isolement par "tout ou rien". *Annual Phytopathology*, 6 (4): 441-453.
- Richard-Molard M., (1983).** La fatigue des terres à betteraves. In: La fatigue des sols. Diagnostic de la fertilité dans le systèmes culturaux. Ed: INRA Paris. 23-28.
- Robinson R.A., (1976).** *Plant Pathosystems*. Springer-Verlang, Berlin, Heidelberg, New York, 184 pp.

- Rodríguez-Kábana R., (1998).** Alternatives to MB soil fumigation. En: A. Bello, J.A. González, M. Arias, R. Rodríguez-Kábana (Eds). Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries. DG XI EU, CSIC, Valencia, 17- 34.
- Rodríguez-Kábana R., Morgah-Jones G., Chet Y., (1987).** Biological control of nematodes: soil amendments and microbial antagonists. *Plant and soil* 100: 237-247.
- Rodríguez-Molina M.C., (1996).** Ensayo de caracterización de suelos agrícolas y forestales de Extremadura tomando como indicadores a *Fusarium* Link y *Pythium* Pringsheim: La representatividad del muestreo. *Tesis Doctoral*, EPSIA Madrid, Madrid, 209 pp.
- Roudeillac P., (1983).** Les dépérissements du fraisier et la fatigue de sol. In: La fatigue des sols. Diagnostic de la fertilité dans le systèmes culturaux. Ed: INRA Paris. 65-70.
- Rosa E.A., Heaney R.K., Fenwick G.R., Portas C.A.M., (1997).** Glucosinolates in crop plants. *Horticultural Review*, 19: 99-215.
- Rouxel F., (1978).** Étude de la résistance microbiologique des sols aux Fusarioses vasculaires. Application aux sols de la Basse Vallée de la Durance. Thèse Doctoral University Dijon, Dijon, 134 pp.
- Rouxel F., Alabouvette C., Louvet J., (1979).** Recherches sur la résistance des sols aux maladies IV. Mise en evidence de rôle des *Fusarium* autochtones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melón. *Annual Phytopathology*, 11: 199-207.
- Rouxel F., Bouhot D., (1971).** Recherches sur l'ecologie des champignons parasites dans le sol. IV. Nouvelles mises au point concernant l'analyse sélective et quantitative des *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* dans le sol. *Annual Review of Phytopathology*, 3(2): 171-188.
- Rouxel F., Alabouvette C., Louvet, J., (1979).** Recherches sur la sistance des sols aux maladies. IV- Mise en vidence du rle des *Fusarium* autochtones dans le sistance d'un sol la fusariose vasculaire du melón. *Phytopathology*.11: 199.
- Rovira A. D., Bowen G. D., Foster R. C. (1988).** The insignificance of rhizosphere microflora and mycorrhizas on plant nutrition. In: A. Lauchii and R.L. Bielski (eds.). *Encyclopaedia of Plant Nutrition*, Springer- Verlag, Berlín, p. 61.
- Rovira A. D., (1953).** Some qualitative and quantitative aspects of the rhizosphere. *Australian Conference of Soil Science*. (Adelaide), 1: 1-7.

- Sacristán G., Reguera J.I., López D. J., (2004).** Evolución de la microbiota durante el proceso de biofumigación en suelos agrícolas. *En: XII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Lloret de Mar, Gerona, 26 septiembre-1 octubre. Resúmenes, 330.
- Santos M., Martín F., Diáñez F., Carretero F., García-Alcazar M., Cara M de., Tello J.C., (2008).** Efecto de la aplicación de vinaza de vino como biofertilizante y en el control de enfermedades en el cultivo de pepino. VIII Congreso SEAE, 16-20 Septiembre, Bullas, Murcia, 90 p.
- Santos B.M., Gilreath J.P., López-Aranda J.M., Miranda L., Soria C., Medina J.J., (2007).** Comparing methyl bromide alternatives for strawberry in Florida and Spain. *Journal Agronomy* 6, 225-227 pp.
- Santos B.M., Gilreath J.P., Motis T.N., Noling J.W., Jones J.P., Norton J.A., (2006).** Comparing methyl bromide alternatives for soilborne disease, nematode and weed management in fresh market tomato. *Crop Protection*. 25, 690-695.
- Schonwitz R., Zeigler H., (1982).** Exudation of water-soluble vitamins and of some carbohydrates by intact roots of maize seedlings (*Zea mays* L.) into a mineral nutrient solution. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 107: 7.
- Scher F.M., Baker R., (1980).** Mechanisms of biological control in a Fusarium-suppressive soil. *Phytopathology*, 70: 412-417.
- Scher F.M., Baker R., (1982).** Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to Fusarium wilt pathogens. *Phytopathology*, 72: 1567-1573.
- Shen D., (1997).** Microbial diversity and application of microbial products for agricultural purposes. *Agriculture Ecosystems Environment*, 62: 237-245.
- Shen C., Xiong J., Zhang H., Feng Y., Li X., Liang W., Chu H., (2013).** Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. *Soil Biology Biochemistry*, 57: 204-211. doi:[10.1016/j.soilbio.2012.07.013](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.07.013)
- Shetty K.G., Subbarao K.V., Huisman O.C., Hubbard J.C., (2000).** Mechanism of broccoli mediated Verticillium wilt reduction in cauliflower. *Phytopathology* 90: 305-310.
- Sivan A., Chet I., (1989).** The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology* 79:198-203.
- Soler J.M., (1997).** Telone y sanimul como alternativas al bromuro de metilo. *En: A. López y J. A. Mora (eds.) Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero.*

Publicación de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia. Jornadas, 11: 41-45.

Sørensen J., (1997). *The rhizosphere as a habit for soil microorganisms.* (J.D. Van Elsas, J. T. Trevors and E.M. Wellington, eds.) Marcel Dekker, New York, *Modern Soil Microbiology*, 21.

Smith K.P., Goodman R.M., (1999). Host variation for interactions with beneficial plant associated microbes. *Annual Review Phytopathology* 37, 473– 491.

Smith I.M., Dunez J, Lelliott R.A., Phillips D.H., Archer S.A., (1992). Manual de enfermedades de las plantas.

Smith S. N., Snyder W.C., (1971). Relationship of inoculum density and soil types to severity of Fusarium wilt of sweet potato. *Phytopathology*, 61: 1049.

Smolinska U., (2000). Survival of *Sclerotium cepivorum* sclerotia and *Fusarium oxysporum* chlamydospores in soil amended with cruciferous residues. *Journal Phytopathology* 148:343-349.

Smolinska U., Morra M.J., Knudsen G.R. and Brown P.D. (1997). Toxicity of glucosinolate degradation products from Brassica napus seed tissue toward *Aphanomyces euteiches* f.sp. *psi*. *Biological Control*, 87(1): 77-82.

Sneh B., Dupler M., Elad Y., Baker R., (1984). Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from a Fusarium-suppressive soil. *Phytopathology*, 74:1115-1124.

Srivastava D., Kapoor R., Srivastava S.K., Mukerji K.G., (1996). Vesicular arbuscular mycorrhiza—an overview. In: Mukerji, K.G. (Ed.), *Concepts in Mycorrhizal Research*. Kluwer Academic Publishing, Netherlands, pp. 1 –39.

Stapleton J.J., (2000). Soil solarization in various agricultural production systems. *Crop protection* 19: 837-841.

Stapleton J.J., DeVay J.E., (1982a). Effect of soil solarization on populations of selected soilborne microorganism and growth of deciduous fruit tree seedlings. *Phytopathology*, 72: 323-326.

Stapleton J.J., DeVay JE, (1982b). Changes in microbial populations in solarized soils as related to increased plant growth. (Abstr.) *Phytopathology* 72: 985.

- Stapleton J.J., DeVay J.E., (1983).** Response of phytoparasitic and free-living nematodes to soil solarization and 1,3-dichloropropene in California. *Phytopathology* 73: 1429-1436.
- Stapleton J.J., De Vay J.E., (1984).** Thermal components of soil solarization as related to changes in soil and root microflora and increased plant growth response *Phytopathology* 74: 255-259.
- Stapleton J.J., De Vay J.E., Quick J., Van Rijckevorsel H., De Boer G.J., (1983).** Increased soluble mineral nutrients in soils as related to increased plant growth response following soil solarization. (Abstr.) *Phytopathology* 73: 814.
- Subba Rao N.S., (1999).** Organic matter decomposition. In: N. S. Subba Rao. (4th ed.) *Soil microbiology*, Science Publishers, USA, 320 pp.
- Subba Rao K.V., Hubbard J.C., Koike S.T., (1999).** Evaluation of broccoli residue incorporation into field soil for Verticillium wilt control in cauliflower. *Plant Disease*, 83:124-129.
- Sullivan D., (2000).** Metam sodium sealing methods to increase dose of biocida and improve efficacy. In: *Annual Internacional Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*. San Diego, California (USA), 5-9 November. Abstracts, 90: 1-4.
- Suslow T.V., Schroth M.N., (1982).** Role of deleterious rhizobacteria as minor pathogens in reducing crop growth. *Phytopathology*, 72: 111-115.
- Sutton C.B., (1980).** *The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with pycnidia acervuli and stroma*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. UK., 696 pp.
- Taylor G.S., Parkinson D., (1964).** Studies on fungi in the root region IV. Fungi associated with the roots of *Phaseolus vulgaris* L.. *Plant and soil*, 22(1): 1-20.
- Thorson C.R., Gilligan C.A., (1999).** Quantification of the effect of the hiperparasite *Trichoderma harzianum* on the saprotrophic growth dynamics of *Rhizoctonia solani* in compost using a monoclonal antibody based ELISA. *Mycological Reserch* 103 (4): 443-448.
- Tello J.C., (1988).** La competición microbiana en el suelo. *Horticultura*, 39: 65-83.
- Tello J.C., Bello A., (2002).** Plastics in the disinfection of agriculture land. *Plasticulture*, 121: 50-71.
- Tello J.C, Lacasa A., (1990).** *Fusarium oxysporum* en los cultivos intensivos del litoral mediterráneo de España. Fases parasitaria (fusariosis vasculares del tomate y del clavel) y no parasitaria. *Boletin de Sanidad Vegetal Fuera de Serie* 19, 190 pp.

- Tello J., Lacasa A., (1997).** Problemática fitosanitaria del suelo en el cultivo del pimiento en el campo de Cartagena. En: A. López y J.A. Mora (eds.). *Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia. Jornadas, 11: 11-18.
- Tello J., Lacasa A., (2004).** Las enfermedades de origen edáfico y su control en los pimentonales del Campo de Cartagena. Una interpretación retrospectiva del sexenio 1979-1985. En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora Eds. *Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 11-26.
- Tello J.C., Palmero D., García A., de Cara M., (2010).** *Biodesinfección del suelo para el control de micosis de origen edáfico, corrección de la "fatiga" y efecto sobre las propiedades físico-químicas del suelo*. En: Organismos para el control de patógenos en los cultivos protegidos. Prácticas culturales para una agricultura sostenible. Coord: J.C. Tello y F. Camacho. Fundación Cajamar.
- Tello J.C., Palmero D., de Cara M., (2011).** El suelo como "ente vivo" y su relación con las enfermedades de plantas. En: Meco R., Lacasta C., Moreno M.M., (coords.). *Agricultura ecológica en secoano. Soluciones sostenibles en ambientes mediterráneos*. Ministerio de medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Ediciones Mundi-Prensa.
- Tello J. C., Rodríguez MC, Lacasa A., (1992).** Importancia de *Fusarium* en las arenas de playas de España. *ITEA*, 88 (2): 77-94.
- Tello J. C, Varés F., Lacasa A., (1991).** Análisis de muestras, 39-48. In: *Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos*. MAPA, Madrid, 485 pp.
- Thorn G., (1997).** The fungi in soil. In, Van Elsas J.D., Trevors J.T., Wellington E.M.H. (Eds.), *Modern Soil Microbiology*. Marcel Dekker, New York, pp. 63– 127.
- Timonen S., Finlay R.D., Olsson S., Soderstrom B., (1996).** Dynamics of phosphorous translocation in intact ectomycorrhizal systems: non-destructive monitoring using a B-scanner. *FEMS Microbiology Ecology* 19, 171– 180.
- Torsvik V., Goksoyr J., Daae F.L., (1990).** High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 782-787.
- Torsvik V., Sorheim R., Goksoyr J., (1996).** Total bacterial diversity in soil and sediment communities—a review. *J. Ind. Microbiology* 17, 170–178.

- Torsvik V., Daae F.L., Sandaa R.A., Ovreas L., (1998).** Review article: novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. *Journal Biotechnology*, 6: 53–62.
- Toussoun T.A., (1975).** Fusarium suppressive soils, in: “Biology and control of soil-borne plant pathogens”, G. W. Bruehl, ed., Am. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN.
- Trevors J.T., (1998a).** Molecular evolution in bacteria: cell division. *Review Microbiology* 29: 237–245.
- Trevors J.T., (1998b).** Bacterial biodiversity in soil with an emphasis on chemically-contaminated soils. *Water Air Soil Pollution*, 101: 45–67.
- Tsao P.H., Oster J.J., (1981).** Relation of ammonia and nitrous acid to suppression of Phytophthora in soils amended with nitrogenous organic substances. *Phytopathology* 71: 53-59.
- Turner N.J., Corden M.E., (1963).** Decomposition of N-methyldithiocarbamate in soil. *Phytopathology* 53:1388-1394.
- Van Berkum J.A, Hostra H., (1979).** Practical aspects of the chemical control of nemátodos in soil. In: Mulder J. (ed.). *Soil Desinfestation*, 53-134.
- Vancura J., Hanzlikova A., (1972).** Root exudates of plants: IV. Differences in chemical composition of seed and seedlings exudates. *Plant and Soil*, 36: 271.
- Van der Heijden M.G.A., Klironomos J.N., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engel R., Boller T., Wiemken A., Sanders I.R., (1998).** Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69–72.
- Van der Plaäst-Niterink A.J., (1981).** Monograph of the genus *Pythium*. *Study in Mycology*, 21: 242pp.
- Van der Wal A., van Veen J.A., Smant W., Boschker H.T.S., Bloem J., Kardol P., van der Putten W.H., de Boer W., (2006).** Fungal biomass development in a chronosequence of land abandonment. *Soil Biology Biochemimetry* 38, 51–60.
- Van Elsas J.D., Frois-Duarte G., Keijzer-Wolters A., Smit E., (2000).** Analysis of the dynamics of fungal communities in soil via fungal- specific PCR of soil DNA followed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal Microbiology Methods*, 43: 133–151.
- Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., (1998).** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Reiew. Phytopathology*, 36: 453-483.

- Vilaseca J.C., (2007).** Papel biofumigante de los restos de cosecha en el control de ToMV, PepMV y *O. brassicae*. Tesis doctoral. Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Universidad Politécnica de Valencia. 478pp.
- Waksman S. A., (1927).** *Principles of soil microbiology*. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD. 897 pp.
- Waksman S.A., (1944).** Microbial antagonisms and antibiotic substances. The Common wealth Foundation, New York.
- Walker T.S., Bais H.P., Grotewold E., Vivanco J.M., (2003).** Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiology*, 132: 44-51.
- Wall D.H., Virginia R.A., (1999).** Controls on soil biodiversity: insights from extreme environments. *Apply Soil Ecology*, 13: 137– 150.
- Wallenius K., Rita H., Mikkonen A., Lappi K., Lindstrom K., Hartikainen H., Raateland A., Niemi R.M., (2011).** Effects of land use on the level, variation and spatial structure of soil enzyme activities and bacterial communities. *Soil Biol Biochem* 43: 1464–1473. doi:[10.1016/j.soilbio.2011.03.018](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.018)
- Wang Q., Ma Y., Yang H., Chang Z., (2014).** Effect of biofumigation and chemical fumigation on soil microbial community structure and control of pepper Phytophthora blight. *World Journal Microbiology Biotechnology* 30: 507-518.
- Waterhouse G.M., (1968).** The genus *Pythium* Pringsheim. *Mycological Papers*, 110: 71pp.
- Weerakoon D.M.N., Reardon C.L., Paulitz T.C., Izzo A.D., Mazzola M., (2012).** Long-term suppression of *Pythium abappressorium* induced by *Brassica juncea* seed meal amendment is biologically mediated. *Soil Biology & Biochemistry*, 52: 44-52.
- Weller D.M., Raaijmakers J.M., Gardener B.B. y Thomashow L.S., (2002).** Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Revision Phytopathology* 40: 309-348.
- Westphal A. y Becker J.O. (2001).** Components of soil suppressiveness against *Heterodera schachtii*. *Soil Biology Biochemistry*, 33: 9-16.

- Westphal A., Xing L.J., (2011).** Soil suppressiveness against the disease complex of the soybean cyst nematode and sudden death syndrome of soybean. *Phytopathology*, Volume: 101, Issue: 7, Page(s):878-886
- Whipps J.M., (2001).** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52: 487-511.
- Wilhelm S., Koch E.C., (1956).** Verticillium wilt controlled: chloropicrin achieves effective control of Verticillium wilt in strawberry plantings if properly applied as soil fumigant. *California Agriculture*, 10: 3-14.
- Wilhelm S., Nelson R.D. (1981).** Fungal diseases of strawberry: In: The Strawberry. Ed: N.F. Childers. Hort. Publ. Gainesville. FL.
- Wilhelm S., Storkan R., Sagen J.E., (1969).** Verticillium wilt of strawberry controlled by fumigation of soil with chloropicrin cholopicrin-methyl bromide mistures.
- Wright S.F., Upadhyaya A., (1998).** A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 198: 97–107.
- Wollum A.G., (1982).** Cultural methods for soil microorganism. En: Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties Second Edition. 1982. Agronomy Monograph 9 (2).
- Widnyana I.K., Suprpta D.N., Sudana I.M., Temaja I.G.R.M. (2013).** Pseudomonas alcaligenes, Potential Antagonist Against Fusarium oxysporum f.sp.lycopersicum the Cause of Fusarium Wilt Disease on Tomato. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, Volumen 3.
- Yao H., He Z., Wilson M.J., Campbell C.D., (2000).** Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. *Microbial Ecology*, 40: 223–237.
- Yélamos J.A., Castillo P., Diánez F., Villaescusa J., Santos M., Chebâani M., Blanco R., Lacasa A., Tello J., (2002).** Efectos del bromuro de metilo y la biosolarización sobre la microbiota fúngica, actinomicética y bacteriana de suelos cultivados con pimiento en Murcia. En: *Actas del V Congreso de la SEAE*, Gijón 16-21 septiembre. Resúmenes: 1.023-1.026.
- Zaccardelli M., De Nicola F., Villecco D., Scotti R., (2013).** The development and suppressive activity of soil microbial communities under compost amendment. *Journal Soil Science Plant Nutrition*, 13: 730-742.

Zanón M.J., (2009). Efecto de la Biofumigación y Biosolarización en el control de bacterias fitopatógenas. Tesis doctoral, Escuela Universitaria de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Valencia, 301 pp.

Zanón M.J., Michitte P., Gutiérrez L. (2011). “Desinfección de suelos con Dazomet: primer fumigante de suelos autorizado en el Anejo I de la directiva Europea 91/414/ ECC” PHYTOMA, Nº 232: 70-74.

Zapater J., (1989). Desinfección de suelos. *Horticultura*, 50: 142-144.

Zentmyer G.A., Erwin D.C., (1970). Development and reproduction of Phytophthora. *Phytopathology*, 60: 1120-1127.

Páginas web consultadas:

FAOSTAT., (2013). En: <http://www.faostat.fao.org> Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura

Junta de Andalucía., (2013). En: <http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca> Junta de Andalucía

MAGRAMA., (2013). Encuesta de superficies y rendimientos de cultivos (ESYRCE, 2011). En: <http://www.magrama.gob.es> Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

Fundación UAL-ANECOOP. En: <http://www.fundaciónualanecoop.org/>