

Biodesinfección de suelos y manejo agronómico



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE
Y MEDIO RURAL Y MARINO

Biodesinfección de suelos y manejo agronómico

MA Díez Rojo
JA López Pérez
P Urbano Terrón
A Bello Pérez



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE
Y MEDIO RURAL Y MARINO

2010

Portada. Estiércol utilizado en biodesinfección de suelos (Foto JM Torres Nieto)

Versión: Diciembre 2010

Este trabajo ha sido realizado en el marco de la Encomienda de Gestión financiada por el Ministerio de Medio Ambiente “Reducción del impacto ambiental de subproductos agroindustriales mediante su empleo como biodesinfectantes para la sustitución de agroquímicos”

Secretaría General Técnica
Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino

NIPO: 770.10.292.0

*A la Dra María ARIAS DELGADO
por su contribución al desarrollo
de la nematología agraria*

“...un no saber sabiendo ...”
Coplas hechas sobre un éxtasis de harta contemplación
San Juan de la Cruz
(Fontiveros, Ávila, 1542 – Úbeda, Jaén, 1591)



Biodesinfección de suelos y manejo agronómico

| ÍNDICE | | Pág. |
|---|--|------|
| ABREVIATURAS | | 13 |
| PRÓLOGO | | 17 |
| 1. INTRODUCCIÓN | | 19 |
| 1.1. AGROECOLOGÍA Y BIODESINFECCIÓN DE SUELOS | | 21 |
| 1.1.1. Ecología de los sistemas agrarios | | 23 |
| 1.1.1.1. Autorregulación de los agrosistemas | | 23 |
| 1.1.1.2. Estructura de los agrosistemas | | 24 |
| 1.1.1.3. Diversidad y complementariedad en la gestión de los agrosistemas | | 25 |
| 1.1.2. Empleo de recursos locales | | 26 |
| 1.1.3. La agricultura mediterránea como modelo agroecológico | | 27 |
| 1.1.4. Ecología e investigación agraria | | 28 |
| 1.2. BROMURO DE METILO, PROBLEMÁTICA Y RETIRADA | | 30 |
| 1.3. NEMATODOS FITOPARÁSITOS | | 35 |
| 1.3.1. Nematodos formadores de nódulos del género <i>Meloidogyne</i> | | 42 |
| 1.3.1.1. Características morfológicas del género <i>Meloidogyne</i> | | 43 |
| 1.3.1.2. Biología | | 44 |
| 1.3.1.3. Especies de interés | | 45 |
| 1.3.1.4. Relación <i>Meloidogyne</i> -hospedante | | 46 |
| 1.3.2. Nematodos asociados al viñedo | | 50 |
| 1.3.2.1. Nematodos transmisores de virus del género <i>Xiphinema</i> | | 50 |
| 1.3.2.2. Virus causante del entrenudo corto infeccioso de la vid (GFLV) | | 54 |
| 1.4. NEMATODOS FITOPARÁSITOS Y ALTERNATIVAS DE MANEJO | | 56 |
| 1.4.1. Tratamientos con nematicidas o nematostáticos de síntesis | | 59 |
| 1.4.1.1. Fumigantes del suelo | | 59 |
| 1.4.1.2. No fumigantes del suelo | | 62 |
| 1.4.2. Alternativas no químicas para el manejo de nematodos | | 64 |
| 1.4.2.1. Biodesinfección de suelos y manejo de la materia orgánica | | 73 |
| 1.4.2.2. Biofumigación o biodesinfección de suelos | | 74 |
| 1.4.3. Prácticas culturales | | 75 |
| 2. BIODESINFECCION DE SUELOS | | 81 |
| 2.1. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS Y MATERIA ORGÁNICA | | 83 |
| 2.1.1. Biofumigación | | 84 |
| 2.1.2. Desinfestación biológica de suelos | | 87 |
| 2.1.3. Desinfección selectiva de suelos | | 90 |
| 2.1.4. Biodesinfestación | | 99 |
| 2.1.5. Agentes de control biológico | | 104 |
| 2.1.6. Suelos supresivos | | 106 |
| 2.2. BIODESINFECCIÓN Y SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES | | 108 |
| 2.3. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS EN ESPAÑA | | 111 |
| 3. METODOLOGÍA UTILIZADA | | 121 |
| 3.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS ZONAS ESTUDIADAS | | 121 |

| | Pág. |
|--|------|
| 3.2. MUESTREOS Y TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN | 122 |
| 3.2.1. Muestras | 123 |
| 3.2.2. Procesos previos a la extracción | 124 |
| 3.2.3. Extracción a partir de suelo | 124 |
| 3.2.3.1. Método de centrifugación | 124 |
| 3.2.3.2. Método de Flegg | 126 |
| 3.2.4. Extracción a partir de raíz | 127 |
| 3.3. ESTUDIO CUANTITATIVO Y CUALITATIVO DE NEMATODOS | 128 |
| 3.4. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES, RAZAS Y BIOTIPOS DE NEMATODOS DEL GÉNERO <i>Meloidogyne</i> | 131 |
| 3.4.1. Identificación por morfología y morfometría del cuerpo de los individuos | 131 |
| 3.4.2. Identificación por métodos de biología molecular | 132 |
| 3.4.3. Identificación de razas y biotipos | 134 |
| 3.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIODESINFECTANTE | 137 |
| 3.5.1. Determinación <i>in vitro</i> de la actividad biofumigante | 137 |
| 3.5.2. Estudio en laboratorio de la actividad biodesinfectante en suelo | 138 |
| 3.5.3. Estudios de la eficacia de la biodesinfección en columnas de lixiviación | 141 |
| 3.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE FERTILIDAD DEL SUELO | 142 |
| 3.7. ESTUDIO DE LA BIODESINFECCIÓN EN CAMPO | 142 |
| 3.7.1. Túnel experimental del Centro Agrario de Marchamalo (Guadalajara) | 142 |
| 3.7.2. Pimientos. Ensayo realizado en finca experimental Torre Blanca (Murcia) | 145 |
| 3.7.3. Invernadero comercial en San Isidro (Níjar, Almería) | 149 |
| 3.7.4. Viñedo comercial de Jumilla (Murcia) | 150 |
| 3.7.5. Viñedos comerciales de Ciudad Real: Membrilla, Tomelloso y Socuéllamos | 152 |
| 3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 155 |
| 4. BIODESINFECCIÓN Y RESULTADOS | 157 |
| 4.1. ENSAYOS REALIZADOS EN CONDICIONES DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS | 157 |
| 4.1.1. Ensayos realizados <i>in vitro</i> sobre <i>M. incognita</i> y <i>X. index</i> | 157 |
| 4.1.1.1. Ensayos sobre <i>M. incognita</i> con vinazas de remolacha | 158 |
| 4.1.1.2. Ensayos sobre <i>M. incognita</i> con vinazas de vino | 158 |
| 4.1.1.3. Ensayos <i>in vitro</i> sobre <i>X. index</i> con vinazas de remolacha | 159 |
| 4.1.1.4. Ensayos <i>in vitro</i> realizados sobre <i>X. index</i> con vinazas de vino | 159 |
| 4.1.2. Ensayos realizados en condiciones de laboratorio en muestras de suelo | 160 |
| 4.1.2.1. Ensayos sobre <i>M. incognita</i> con vinazas de remolacha | 160 |
| 4.1.2.2. Ensayos sobre <i>M. incognita</i> con vinazas de vino | 165 |
| 4.1.2.3. Ensayos sobre <i>X. index</i> con vinazas de remolacha | 168 |
| 4.2. ENSAYOS EN HORTÍCOLAS BAJO PLÁSTICO EN CAMPO | 169 |
| 4.2.1. Control de nematodos formadores de nódulos del género <i>Meloidogyne</i> en Marchamalo (Guadalajara) | 169 |
| 4.2.2. Control de nematodos formadores de nódulos del género <i>Meloidogyne</i> en el cultivo de pimiento en Torre Pacheco (Murcia) | 193 |
| 4.2.3. Control de nematodos formadores de nódulos del género <i>Meloidogyne</i> en Níjar (Almería) | 210 |

| | Pág. |
|--|------|
| 4.3. ENSAYOS EN VIÑEDOS | 217 |
| 4.3.1. Biodesinfección en replantación de viñedo con estiércol de caprino | 218 |
| 4.3.1.1. Eficacia del barbecho en el control de <i>X. index</i> | 220 |
| 4.3.1.2. Eficacia de la biodesinfección de suelos en toda la superficie | 222 |
| 4.3.1.3. Eficacia de la biodesinfección a lo largo del perfil del suelo | 226 |
| 4.3.1.4. Efecto de la biodesinfección de suelos sobre <i>Macroposthonia xenoplax</i> | 229 |
| 4.3.1.5. Frutales asociados a la vid y la replantación | 229 |
| 4.3.2. Manejo de nematodos en viñedos establecidos mediante el uso de vinazas de vino y remolacha en la provincia de Ciudad Real | 230 |
| 4.3.2.1. Manejo de nematodos asociados al viñedo mediante el uso de vinazas de vino y remolacha en Socuéllamos (Ciudad Real) | 230 |
| 4.3.2.2. Manejo de nematodos asociados al viñedo mediante el uso de vinazas de vino en Membrilla (Ciudad Real) | 236 |
| 4.3.2.3. Manejo de nematodos asociados al viñedo mediante el uso de vinazas de vino en Tomelloso (Ciudad Real) | 239 |
| 4.4. INFLUENCIA DE LA BIODESINFECCIÓN EN LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO | 244 |
| 4.4.1. Composición química de las vinazas procedentes de la industria alcoholera | 244 |
| 4.4.2. Influencia de la biodesinfección con vinazas de remolacha y de vino en muestras de suelos en condiciones controladas de laboratorio | 245 |
| 4.4.2.1. Efecto sobre la fertilidad del suelo de vinazas de remolacha y vino sobre un suelo arenoso y básico de Villa del Prado (Madrid) | 246 |
| 4.4.2.2. Efecto sobre la fertilidad del suelo de las vinazas de remolacha y vino sobre un suelo arcilloso y básico del San Javier (Campo de Cartagena, Murcia) | 248 |
| 4.4.2.3. Efecto sobre la fertilidad del suelo de vinazas de remolacha sobre un suelo arenoso y ligeramente básico de El Perelló (Valencia) | 251 |
| 4.4.2.4. Efecto sobre la fertilidad del suelo de vinazas de remolacha en columnas de suelo de viñedo. Suelo arenoso y ligeramente básico de Jumilla (Murcia) | 252 |
| 4.4.3. Influencia de la biodesinfección en experimentos de campo | 254 |
| 4.4.3.1. Influencia de la biodesinfección con vinazas de remolacha en la fertilidad del suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) | 254 |
| 4.4.3.2. Influencia de la biodesinfección con estiércol de ovino y vinazas de remolacha y vino en el invernadero CH de la finca experimental de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) | 278 |
| 4.4.3.3. Influencia de las vinazas de vino y remolacha en viñedos establecidos | 295 |
| 4.5. CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES DE <i>Meloidogyne</i> PARA SU MANEJO AGRONÓMICO | 298 |
| 4.5.1. Almería | 302 |
| 4.5.2. Castilla-La Mancha y Madrid | 310 |
| 4.5.3. Extremadura | 315 |
| 4.5.4. Murcia | 316 |
| 4.5.5. Comunidad Valenciana | 319 |

| | |
|--|-----|
| 4.5.6. Poblaciones y biotipos de <i>Meloidogyne</i> estudiados con descripción de otras poblaciones no descritas anteriormente | 321 |
| 4.5.7. Estudio de cultivares portadores de genes de resistencia | 323 |
| 5. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS COMO ALTERNATIVA | 327 |
| 5.1. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS | 332 |
| 5.2. DIVERSIDAD EN NEMATODOS, VARIEDADES RESISTENTES Y MANEJO | 339 |
| 5.3. MANEJO AGRONÓMICO Y DESINFECCIÓN DE SUELOS | 349 |
| 6. CONSIDERACIONES FINALES | 359 |
| RESUMEN | 365 |
| SUMMARY | 367 |
| AGRADECIMIENTOS | 369 |
| REFERENCIAS | 371 |

ABREVIATURAS

| | |
|-----------------------|---|
| 1,3-D | 1,3 dicloropropeno |
| 1,3-D + Pic (C35) | 1,3 dicloropropeno + cloropicrina |
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| ARNi | Ácido ribonucleico interferente |
| AGRINNOVA | <i>Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo Agro-ambientale</i> (Centro de competencia para la innovación en el ámbito Agro-ambiental) |
| ArMV | <i>Arabis Mosaic Virus</i> virus del mosaico de Arabis |
| ANOVA | <i>Analysis of variance</i> (Análisis de la varianza) |
| ANOVA DMS | Análisis de la varianza Diferencia Mínima Significativa |
| AGV | Ácidos grasos volátiles |
| B | Boro |
| BM (MB) | Bromuro de metilo |
| bp | Pares de bases |
| BSD | <i>Biological soil desinfestation</i> (Desinfestación biológica de suelos) |
| CCAA | Comunidades Autónomas |
| CCMA | Centro de Ciencias Medioambientales |
| CICYT | Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología |
| C/N | relación carbono-nitrógeno |
| C _{orgánico} | Carbono orgánico |
| CSIC | Consejo Superior de Investigaciones Científicas |
| CTM | Ciencias de tecnologías en materiales |
| Cu | Cobre asimilable |
| CUN (CUN's) | <i>Critical Use Nomination</i> (Usos críticos) |
| cv ó cvs | Cultivar o cultivares |
| ddt | Días después del transpante |
| dNTPs | Nucleótidos |
| EE UU | Estados Unidos de América |
| EFO | Estiércol fresco de ovino |
| ELISA | <i>Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay</i> |
| EPA | <i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agencia para la protección del medioambiente de Estados Unidos) |
| FAO | <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> (Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación) |
| FEPEX | Federación Española de Productores y Exportadores |
| FRC | Frecuencia de revoluciones en centrifugadora |
| GFLV | <i>Grapevine Fan Leaf Virus</i> (Virus del entrenudo corto o degeneración infecciosa de la vid) |
| IC-PCR | <i>Immucapture Polymerase Chain Reaction</i> |
| IM | Ioduro de metilo |

| | |
|--------------------|--|
| IMIDA | Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario |
| INIA | Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias |
| IPM | <i>Integrated Production Management</i> (Agricultura Integrada) |
| J ₁ | Juveniles de primer estadio |
| J ₂ | Juveniles de segundo estadio (estadio infectivo de <i>Meloidogyne</i>) |
| J ₃ | Juveniles de tercer estadio |
| J ₄ | Juveniles de cuarto estadio |
| JCCM | Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha |
| mM | mili Molar |
| MAPA | Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación |
| MBTOC | <i>Methyl Bromide Technical Options Committee</i> (Comité de Opciones Técnicas al bromuro de metilo) |
| MO (%) | Porcentaje de materia orgánica |
| NK | Nitrogenado potásico |
| N _{total} | Nitrógeno orgánico |
| NNUU | Naciones Unidas |
| OT | Oficina tecnológica |
| Pa2 | <i>Globodera pallida</i> patotipo Pa2 |
| Países Art. 5 | Países Artículo 5 |
| Países no-Art. 5 | Países no-Artículo 5 |
| PCR | <i>Polimerasa Chain Reaction</i> (Reacción en cadena de la polimerasa) |
| PCR-RPLF | <i>Polymerase Chain Reaction-Restriction Polymorphism Length Fragment</i> |
| PepMV | <i>Pepino Mosaic Virus</i> (Virus del mosaico del pepino dulce) |
| PGPR | <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i> (Bacterias promotoras del crecimiento vegetal) |
| PIC | Cloropicrina |
| (PR) | Perirradicular |
| PNUMA | Programa de Naciones Unidas de Medio Ambiente |
| PPV | <i>Plum Pox Virus</i> (Virus de la Sharka) |
| QPS | <i>Quarantine and Pre-shipment</i> (Cuarentena y pre-embarque) |
| (R) | Raíz |
| RAPD | Amplificación de ADN polimórfico al azar |
| Ro1 | <i>Globodera rostochiensis</i> patotipo Ro1 |
| SAR | <i>Systemic Acquired Resistance</i> (Resistencia inducida adquirida) |
| SEAE | Sociedad Española de Agricultura Ecológica |
| SLRSV | <i>Strawberry Latent Ringspot Virus</i> (Virus de los anillos latentes de la fresa) |
| TBE | Tris-borato-EDTA |
| TRSV | <i>Tobacco Ringspot Virus</i> (Virus de la mancha anular del tabaco) |
| TSWV | <i>Tomato Spotted Wilt Virus</i> (Virus del bronceado del tomate) |
| ToMV | <i>Tomato Mosaic Virus</i> (Virus del mosaico del tomate) |
| UE | Unión Europea |

| | |
|------|---|
| UNEX | Universidad de Extremadura |
| VAM | Vesicular arbuscular mycorrhiza (Micorrizas vesículoarbusculares) |
| VIF | <i>Virtually Impermeable Film</i> (Plástico virtualmente impermeable) |
| Vin. | Vinazas |

Otros

| | |
|--------------------------------------|--|
| <i>Compost tea</i> | Té de compost solución líquida producida combinando materiales compostados de plantas y/o animales con agua y una fuente de nutrientes concentrados como melaza. |
| <i>Lime-stabilised sewage sludge</i> | Lodos urbanos estabilizados con calcio. |
| <i>Muck</i> | Suelo de zonas encharcados temporal o permanentemente en los que la materia orgánica está sin descomponer. |

PRÓLOGO

La importancia económica de los nematodos fitopatógenos y otras plagas o enfermedades del suelo (*soilborne pests*, SBPS) se pone de manifiesto en la primera mitad del siglo XIX junto con el concepto de fumigación del suelo. El uso de bisulfuro de carbono (CS₂) para el control de nematodos formadores de quistes en el cultivo de la remolacha azucarera, primero en Francia y después en Alemania, dio una solución a corto plazo al problema de cansancio del suelo (*bodenmudigkeit*), fenómeno que surgió en la producción de remolacha azucarera en Europa. Los altos precios del azúcar, buenos rendimientos de la remolacha y el desarrollo de tecnologías para la extracción de sacarosa dieron lugar a la proliferación de grandes plantaciones de remolacha azucarera en Francia, que fueron apoyadas por las subvenciones gubernamentales y la investigación. Este hecho se repitió rápidamente en Alemania y otros países europeos, en donde la producción de otros cultivos no era tan rentable. El resultado de la generalización del monocultivo de remolacha dio lugar en corto plazo a la aparición de problemas causados por nematodos y otros SBPS. El éxito a corto que se obtuvo con la fumigación con CS₂ condujo a la idea de que los tratamientos al suelo con agroquímicos eran una solución práctica para los problemas de suelo, desarrollándose las técnicas para su aplicación. De este modo, a finales del siglo XIX y principios de XX fueron apareciendo de modo sucesivo y rápido productos como el formaldehído y paraformaldehído, cloropicrina o fungicidas, algunos de estos últimos contenían compuestos de mercurio.

Muchos sistemas de cultivo tradicionales considerados como sostenibles fueron abandonados en favor de las soluciones rápidas ofrecidas por los tratamientos químicos al suelo. El concepto de limpieza (*cleaning up*) de suelos mediante la aplicación de productos químicos u otros medios, se impuso. Realmente, la aplicación de vapor de agua a los suelos fue el modelo similar a la desinfección de suelos con productos agroquímicos. El vapor de agua aplicado a los suelos fue la base para resolver los problemas del suelo causados por nematodos y SBPS. No se tuvieron en cuenta los efectos negativos que los agroquímicos, el vapor de agua u otros tratamientos pudieran tener sobre la biología del suelo, la fertilidad a largo plazo o la calidad del suelo en general. Afortunadamente, durante el periodo de finales del siglo XIX y principios del XX, se descubrió y describió el fenómeno de “la supresividad del suelo” contra los patógenos de plantas, pero pasó inadvertida para su aplicación técnica. Durante el mismo periodo y sin prestarle atención por parte de los técnicos y agricultores, se fueron adquiriendo conocimientos sobre la importancia de las técnicas y sistemas de cultivo en la rizosfera, micorrizas u otros componentes del suelo. Los descubrimientos encontrados desde la investigación sobre estos componentes y otros aspectos relacionados con la actividad microbianas del suelo y su aplicación para resolver los problemas de enfermedades de las plantas, fueron la base para el desarrollo de nuevas técnicas y sistemas de cultivos sostenibles, especialmente en cultivos de bajo valor económico, donde la aplicación de fumigantes del suelo u otros agroquímicos no era rentable. Surgió una diferencia de criterios en relación con las soluciones de los problemas del suelo causados por nematodos y otros SBPS. Se adoptó el uso de químicos, calor o vapor de agua, etc. para la desinfección de suelos por aquellos que planteaban la desinfección como solución. Por el contrario, otros recurrieron a las técnicas de

cultivo, genética de las plantas, aplicación de materia orgánica, inundación u otros métodos no químicos, para mantener la producción de los cultivos a niveles económicos.

La aplicación de la cloropicrina después de la Primera Guerra Mundial para la fumigación de huertos resultó eficaz para el control de SBPS, esto dio lugar al uso de los fumigantes del grupo de los hidrocarburos halogenados como el bromuro de metilo (*methyl bromide*, MB) en la década de los 30, dicloropropano, dibromo etileno (*ethylene dibromide*, EDB), y dibromocloropropano (*dibromochloropropane*, DBCP) en las décadas de los 40 y 50. La eficacia de estos fumigantes fue grande y originó la idea de que los nematodos fitopatógenos y otros SBPS causaban mundialmente pérdidas importantes en la mayoría de cultivos. Esto llevó a un incremento de modo exponencial del uso de estos agroquímicos. Su eficacia fue tal que la mayoría de las investigaciones sobre alternativas no-químicas para mantener la producción agrícola fueron prácticamente abandonadas o perdieron interés. Los fumigantes se usaron de modo rutinario para evitar los problemas causados por plagas o enfermedades. Se adoptó literalmente un pensamiento único sobre la bondad de los fumigantes en investigación y prácticas agrícolas. Todo esto fue en detrimento de las investigaciones y utilización de otras tecnologías para la gestión de los problemas de plagas o enfermedades del suelo sin agroquímicos. Los problemas toxicológicos y ambientales surgidos posteriormente llevaron a la retirada de los hidrocarburos halogenados como fumigantes para uso agrícola. Esto comenzó en 1978 con el DBCP, seguido por el EDB en 1981 y el MB después de 1992. La eliminación de los fumigantes puso de manifiesto la falta de conocimiento en alternativas y técnicas de manejo, haciéndose una reflexión sobre las consecuencias del abandono de las investigaciones sobre técnicas y sistemas agrarios sostenibles.

A principios de 1992 se hizo un gran esfuerzo en investigación en todo el mundo para adquirir conocimientos para reemplazar los fumigantes. Y una vez más, apareció una dicotomía de pensamiento sobre el tipo de investigación que era necesaria. La mayoría de los fondos en investigación se destinaron a encontrar equivalentes químicos que reemplazaran al MB para la fumigación del suelo. Esta alternativa no se aceptó universalmente. En algunos países, especialmente España, se hicieron importantes y significativos esfuerzos en investigación y trabajos sobre alternativas no químicas. Este libro representa un resumen del tremendo esfuerzo que los miembros del Equipo de Investigación coordinado por los Profs Antonio Bello y Maria Arias han realizado en España. El libro refleja décadas de investigación del Equipo y se dedica a la Doctora M. Arias, una persona versada en investigación básica con dedicación compartida al trabajo práctico (Investigación Participativa). Mucho de lo que este libro presenta es una reflexión directa sobre las alternativas para resolver los problemas de nematodos seleccionadas por el Equipo utilizando técnicas y sistemas sostenibles al alcance de los técnicos y productores españoles. Consumidores y productores de todo el mundo tienen una enorme deuda de gratitud con su esfuerzo pionero y pensamiento original.

Auburn, 7 de septiembre 2010

Dpto Entomology and Plant Pathology, Univ. Alabama.

Profesor Rodrigo Rodríguez-Kabana

1. INTRODUCCIÓN

Las bases agronómicas en los sistemas agrarios tienen como objetivo principal el conocimiento de los elementos y procesos claves que regulan el funcionamiento de los cultivos, para **establecer criterios científicos que permitan una gestión correcta de los sistemas agrarios en armonía con el ambiente**. Dicho conocimiento promueve la preocupación por la salud de los ciudadanos, así como el bienestar social y económico de los agricultores. La sanidad vegetal, ha sido enfocada tradicionalmente bajo el concepto de lucha y control, utilizando arsenales químicos o biológicos, por ello en estos momentos, debe fundamentarse en criterios ecológicos (agroecología). **La aplicación de criterios ecológicos en sanidad vegetal ha permitido desarrollar procesos como la biofumigación o la biodesinfección de suelos**, fundamentada en la utilización de los gases resultantes de la descomposición de la materia orgánica para el manejo de organismos patógenos de los vegetales (BELLO *et al.* 2008a, 2010b).

Las alternativas no químicas para la desinfección de suelos basadas en la utilización de materia orgánica, se están volviendo cada vez más viables para los productores y han sido últimamente revisadas por el Methyl Bromide Technical Options Committee (MBTOC), perteneciente al Protocolo de Montreal para la eliminación del bromuro de metilo (BM) como fumigante por su acción en la destrucción de la capa de ozono estratosférico (MBTOC 1995, 1997, 1998, 2002, 2007, 2008, 2009). Al revisar la bibliografía sobre el manejo de nematodos fitoparásitos mediante el uso de materia orgánica, algunos autores observan que se producen además mejoras en la producción, aunque no diferencian si la materia orgánica actúa como enmienda o como supresor de las enfermedades (COOK & BAKER 1983, HOITINK 1988, D'ADABBO 1995). El efecto nematocida se produce a través de distintos mecanismos, **STIRLING (1991) señala que puede ser causado por la liberación de compuestos biocidas o biostáticos, o porque además al favorecer el desarrollo de la microflora y microfauna edáfica se incrementan con ello los microorganismos antagonistas**.

Los **nematodos fitoparásitos** se caracterizan por poseer **estilete**, que es una especie de aguja hipodérmica, provista de un conducto interior, y una musculatura que permite que el órgano sea retráctil y se pueda introducir dentro de la raíz y los tejidos de las plantas, para su alimentación. Dentro de **los fitoparásitos** hay dos grandes grupos: **los ectoparásitos**, de éstos hay unos que se alimentan sobre los pelos radiculares y en las células epidérmicas de la raíz,

con un estilete muy débil (*Tylenchus*), y otros que se alimentan de las células profundas de los tejidos, como son **los transmisores de virus**, que poseen un estilete muy largo (*Longidorus* y *Xiphinema*); otros son **endoparásitos**, dentro de estos unos son sedentarios, principalmente los de forma esférica (*Heterodera* y *Meloidogyne*), y otros son móviles (*Pratylenchus*). **En épocas pasadas los nematocidas de síntesis, fueron la técnica de manejo de estos parásitos**, particularmente en los casos de desarrollo de la enfermedad de modo severo. Por otro lado, **la mayoría de los nematocidas de síntesis, han sido eliminados o limitado su uso en determinadas áreas geográficas, por su impacto sobre la salud de las personas o el ambiente**. Ante la gravedad de los problemas fitonematológicos planteados y la dificultad de su control con alternativas químicas, es necesario encontrar alternativas no químicas que se adapten a las características agroecológicas de cada área y cultivo. En la actualidad los consumidores exigen una agricultura respetuosa con el ambiente y la salud de los ciudadanos, lo que está derivando a un cambio en el enfoque de la producción agraria hacia nuevos modelos de cultivo, y en especial para el manejo de las plagas y enfermedades. Se analizan las alternativas disponibles actualmente para el manejo de los problemas que causan los nematodos, principalmente del género *Meloidogyne* en los cultivos (MBTOC 2007).

La **biodesinfección de suelos**, así como la biofumigación se basan en la inducción de procesos y en la producción de sustancias volátiles que actúan como fumigantes para el control de los organismos patógenos de vegetales, mediante la descomposición de las enmiendas orgánicas y residuos agroindustriales (KIRKEGAARD *et al.* 1993a,b, BELLO 1998, DÍEZ-ROJO 2006, 2010, DÍEZ-ROJO *et al.* 2008a). **El efecto de la biodesinfección sobre la actividad microbiana es selectivo, favoreciendo a los antagonistas y disminuyendo el nivel de las poblaciones de nematodos fitoparásitos**. Por una parte 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 otra, la incorporación de materia orgánica puede incrementar entre 2-3 °C la temperatura del suelo, así como la profundidad del suelo a la cual llega el efecto de la desinfección (BELLO *et al.* 2000, 2001). **La biodesinfección con solarización (biosolarización) ha demostrado ser un método eficaz para regular las poblaciones de nematodos, patógenos fúngicos y malas hierbas**. ROS *et al.* (2002) señalan que la biofumigación con solarización realizada de forma reiterada no sólo no tiene efectos negativos sobre el suelo, sino que, en comparación con suelos sin aporte de materia orgánica, mejora los valores nutricionales del suelo, aumenta los contenidos de materia orgánica, revitaliza la actividad microbiana y los ciclos biogeoquímicos. **Todo ello es especialmente eficaz cuando se incluye dentro de un programa de manejo integrado de los sistemas de producción en lugar de ser aplicada en forma aislada** (BELLO 1998, LEÓN DE *et al.* 2002).

1.1. AGROECOLOGÍA Y BIODESINFECCIÓN DE SUELOS

La agroecología o ecología de los sistemas agrarios, tiene como objetivo el conocimiento de los elementos y procesos claves que regulan el funcionamiento de los agrosistemas, a través de la agronomía, para establecer las bases científicas que permitan la gestión de los sistemas agrarios en armonía con el ambiente. Es de esperar que en el futuro la agricultura muestre una mayor preocupación por el ambiente, la conservación de los recursos naturales, el desarrollo de los agrocombustibles, la salud de las personas y por su contribución a un modelo agrario solidario (BELLO *et al.* 2008a).

El científico que acuña el término de Ecología fue el biólogo alemán Ernst H HAECKEL (1869), quien la define como: “el estudio de las relaciones de un organismo con su ambiente inorgánico u orgánico”. Siguiendo a EH HAECKEL, durante mucho tiempo los ecólogos han tenido una tendencia a utilizar una terminología compleja, que en realidad resulta ser superficial en muchas ocasiones, pues apenas ha servido más que para disimular la ausencia de conocimientos concretos. Una de las definiciones del concepto de ecosistema es la del “conjunto de individuos de muchas especies en el seno de un ambiente de características definibles, e implicadas en un proceso dinámico e incesante de interacción, ajuste y regulación, expresable como intercambio de materia y energía”. Debemos recordar que “si se prescinde de la especie humana no es posible entender el funcionamiento presente de la mayor parte de los ecosistemas” (MARGALEF 1974).

Las consecuencias negativas de unas prácticas agrarias reduccionistas sobre los seres vivos y el medio ambiente fueron denunciadas por CARSON (1962), y son una de las causas que conducen a la denominada crisis ambiental de finales de los sesenta del siglo pasado, que dio lugar al nacimiento de los movimientos ecologistas. Uno de los mayores impactos de la agricultura reside en la aplicación masiva de agroquímicos y maquinaria agraria pesada, que constituyen los logros más destacados de la “Revolución Agraria” iniciada en el siglo XIX, aprovechando las ventajas del rápido desarrollo de los conocimientos de la química y de la mecánica. Al mismo tiempo, **se olvida paulatinamente el conocimiento campesino,** resultado de más de diez mil años de cultura agraria, que ha permitido el desarrollo de una agricultura adaptada a las características ecológicas de cada región, comarca o localidad. Los seguidores de la “Revolución Agraria”, no sólo se han olvidado de los conocimientos de la agricultura tradicional, sino que han llegado a considerarlos obsoletos y propios de países no desarrollados (GLIESSMAN *et al.* 1981, GUZMÁN-CASADO *et al.* 1999, GARCÍA ÁLVAREZ *et al.* 2004a,b, 2005, SEVILLA GUZMÁN 2006).

Es necesario introducir nuevos planteamientos para la producción de alimentos que tengan como referencia el concepto ineludible de sostenibilidad, sin que ello signifique el **olvido de los avances científicos y tecnológicos** que han tenido lugar en el sector agrario en las últimas décadas, sino que, por el contrario, y haciendo uso de ellos, se destinen a seguir produciendo alimentos de calidad, competitivos en el mercado y a costes razonables para el agricultor y ganadero. Pero no deben olvidarse las exigencias para la protección del medio y la conservación de los recursos naturales, en el contexto del paisaje considerado globalmente. Por otro lado, una producción estable sólo se puede llevar a cabo dentro de una organización social que proteja la integridad de los recursos naturales y que asegure la interacción equilibrada de los seres humanos, la gestión del agroecosistema y el ambiente (ALTIERI 1997, IBÁÑEZ *et al.* 2005).

Los científicos deben tratar de encontrar alternativas para resolver los problemas creados por unas prácticas agronómicas que tienen un fuerte impacto sobre el suelo, el ambiente y la salud de los seres vivos, teniendo principalmente como referencia los conocimientos de la biología y la ecología (ALTIERI 1997). Entre los logros obtenidos debemos señalar la selección de agentes de control biológico de los organismos patógenos, así como la selección de alternativas no químicas al empleo de pesticidas (STIRLING 1991, BELLO *et al.* 2003, DÍEZ-ROJO *et al.* 2006). En el campo de la nutrición vegetal, se destaca el conocimiento de la fijación biológica de nutrientes, proponiendo la “manipulación” de la biología del suelo. La agricultura de no laboreo surge también, como alternativa al uso de maquinaria que altera la estructura de los suelos y produce compactación (LÓPEZ-FANDO & BELLO 1997).

Las graves consecuencias derivadas de la “Revolución Verde” podrían ilustrarse con el efecto del BM, un fumigante del suelo utilizado para el control de los patógenos de las plantas, que ha transformado los problemas de impacto local de los pesticidas en un problema global, ya que contribuye de forma notable a la destrucción de la capa de ozono estratosférico, capa que nos protege de la incidencia de los rayos ultravioleta de la luz solar sobre la Tierra, los cuales afectan a la salud de los seres vivos y a la estabilidad de los ecosistemas, incluidos los sistemas agrarios (THOMAS 1997, BELLO & TELLO 1998, BARRES *et al.* 2006, PORTER *et al.* 2006).

Una gran mayoría de ciudadanos son conscientes del impacto ambiental y sobre la salud de las técnicas utilizadas en la gestión de los agrosistemas. Por ello, **se comienza a valorar cada vez más una producción agraria basada en los principios de la ecología**. La desorientación actual en agricultura es grande y, como consecuencia, se han difundido nuevos modelos agrarios que tratan de dar soluciones alternativas, desde la agricultura sostenible a la

biodinámica, pasando por la agricultura orgánica, biológica, permeacultura, integrada, certificada, ecológica, etc. En algunos casos la agricultura se transforma en un paradigma de planteamientos fundamentalistas, en otros se trata simplemente de cambiar el nombre a una agricultura productivista, que esquilma los recursos naturales e impacta sobre el medioambiente. **Estos planteamientos nos conducen a señalar que sólo hay un tipo de agricultura, sin adjetivos, que busca armonizar al ser humano con los principios que regulan el funcionamiento de los sistemas naturales.**

1.1.1. Ecología de los sistemas agrarios

La aplicación de criterios ecológicos en la gestión de los sistemas agrarios, objetivo fundamental de la agroecología y de la agronomía, no debe limitarse a la utilización de los conocimientos científicos de la ecología, desarrollados fundamentalmente a partir de los principios que rigen el funcionamiento de los sistemas naturales, sino que debe consolidar su propio cuerpo como doctrina científica. En este sentido, la agroecología debe tener en cuenta la importancia que el ser humano tiene en la gestión de los sistemas agrarios, aunque estableciendo claramente sus límites y evitando suplantar los objetivos que persiguen otras disciplinas (p. ej. la Sociología Rural). Es necesario establecer unos puntos de referencia o principios que sirvan de base para el desarrollo de la agroecología, teniendo en cuenta la diversidad biogeográfica de los agrosistemas. Por ello, tienen especial relevancia los estudios realizados sobre agrosistemas singulares, presentes todavía en los países en vías de desarrollo, o de los sistemas de montaña, señalando también el interés que tiene la aplicación de criterios agroecológicos en la transformación de los sistemas agrarios convencionales de alta productividad.

1.1.1.1. Autorregulación de los agrosistemas. En agroecología es fundamental conocer la capacidad de autorregulación o la resiliencia de los sistemas agrarios, lo que puede permitir un incremento de la rentabilidad de los cultivos, **al reducir los gastos asociados a la utilización de prácticas que dependen de insumos externos al sistema, como es el caso de los agroquímicos o el uso de agentes biológicos para resolver problemas producidos por plagas y enfermedades.**

Debemos considerar que “las plagas y enfermedades no son frecuentes en sistemas biológicos equilibrados” e incluso que los organismos eventualmente patógenos, tienen su función en los cultivos, interviniendo principalmente en los procesos de descomposición de la materia orgánica. Entre los organismos potencialmente patógenos están los nematodos, que son los principales herbívoros del suelo, junto a los hongos, uno de los principales grupos que

intervienen en la descomposición de la materia orgánica, debiéndose resaltar que la actividad de los nematodos es fundamental en la renovación de los sistemas radiculares de las plantas. Así mismo, ocupan una función destacada en la fragmentación de la materia orgánica y sólo en los sistemas desequilibrados llegan a producir problemas (AKHTAR 2000).

Para conocer la capacidad productiva de un agrosistema es necesario determinar su capacidad de autorregulación. Para ello, deben definirse los elementos y procesos claves en la dinámica del sistema. Por otro lado, sería un objetivo inviable tratar de conocer todos los elementos y procesos que intervienen, debido a la gran complejidad estructural y funcional del agrosistema, además de resultar inabordable desde el punto de vista del agricultor y ganadero.

1.1.1.2. Estructura de los agrosistemas. Desde la antigüedad se admite que la producción agraria se apoya en tres pilares, clima, suelo y planta (URBANO 1992, 2008). Si nos planteamos, a un nivel general, el análisis estructural de un cultivo determinado, obviando su complejidad intrínseca, encontramos dos componentes fundamentales: el **componente edáfico** y el **componente aéreo**. Debemos conocer sus características para poder seleccionar métodos de gestión que permitan mantener la capacidad productiva y de autorregulación del agrosistema.

El **componente edáfico** se caracteriza por tener una **alta diversidad estructural y funcional** que le convierte en uno de los sistemas más complejos que existen en la naturaleza. Desde el punto de vista de su manejo, se puede considerar como un **componente casi aislado**. Esto quiere decir que las mejoras que logremos introducir en los suelos de nuestros cultivos no repercutirán en lo que ocurra en el suelo del agricultor vecino. Además, el suelo ha sido definido como un **criptocomponente** y, por lo tanto, sus elementos estructurales y pautas de funcionamiento no son fáciles de conocer y manejar, puesto que no pueden observarse directamente. A pesar de ello, pueden aprovecharse sus características como sistema aislado con **alta diversidad** para mantener su capacidad de autorregulación.

El **componente aéreo** tiene una estructura más **simple**, que se puede observar directamente (**fenología**), siendo más fácil de gestionar que el suelo y, contrariamente a éste último, se trata de un **sistema abierto**. Su capacidad de autorregulación depende de las actividades que se realicen en su entorno. En este sentido, haciendo referencia a la protección de cultivos, si realizamos unas buenas prácticas de control en nuestros cultivos, éstas servirán de poco si en las áreas próximas se hace lo contrario. Por todo ello, nos encontramos que en los sistemas aéreos es muy fácil actuar directamente sobre los problemas que presentan las plantas

cultivadas, como es el caso del inicio de una enfermedad o plaga, pero la eficacia de las actuaciones puede estar limitada por ser un componente abierto. Es necesario proteger el sistema, a través de prácticas agrícolas, como la introducción de setos, agroforestación, rotación de cultivos, cultivos intercalados o policultivo, favoreciendo la diversificación y el establecimiento de fronteras en el espacio (WIERSUM 1981, VANDERMEER 1989, COLLINS *et al.* 1992, URBANO & MORO 1992, BUNCE *et al.* 1993, ALTIERI 1997, MICHEL *et al.* 1997, OZORES-HAMPTON *et al.* 2005).

1.1.1.3. Diversidad y complementariedad en la gestión de los agrosistemas. Del estudio de la estructura de los agrosistemas, así como de sus mecanismos y características funcionales, se deriva que las claves para su gestión residen en el mantenimiento de su **diversidad funcional**. En el caso del suelo la diversidad, y especialmente su biodiversidad, es una de sus características principales. Estas características concurren difícilmente en la agricultura convencional, puesto que a través del uso generalizado de agroquímicos la biodiversidad puede quedar muy reducida o prácticamente eliminada. Su recuperación, cuando sea posible, sólo se produce a partir de prácticas agrarias alternativas, especialmente a través del abonado orgánico o utilizando las **propiedades funcionales de las plantas**, como es el caso de las leguminosas por su capacidad de propiciar la fijación biológica del nitrógeno (RODRÍGUEZ-KÁBANA & CANULLO 1992). **Los aspectos funcionales de las plantas (biodiversidad funcional) resultan decisivos en la diversificación de los sistemas agrarios**, ya sea a través de policultivos, cultivos intercalados, rotaciones o bien a partir de la diversificación del paisaje. En otros casos se pueden utilizar métodos artificiales como son los plásticos en la construcción de invernaderos en Almería, que por un lado crean las condiciones ambientales apropiadas para el desarrollo de los cultivos y por otro impiden la propagación de los agentes patógenos. Esto se puede conseguir de modo natural a través de la utilización de setos, que además pueden modificar las condiciones ambientales.

Las **cubiertas vegetales** son de gran interés no sólo en la conservación del agua y el suelo, sino también en el control de la flora arvense (malas hierbas) y algunos organismos patógenos, mediante su efecto en la regulación de la temperatura del suelo (LAL *et al.* 1991, ALTIERI *et al.* 1997), y en este sentido sería de gran interés conocer la función de la **flora arvense** en los agrosistemas. La **ganadería** tiene gran valor diversificador, especialmente en los agrosistemas mediterráneos, como es el caso de los sistemas de dehesa. Se puede contemplar también con la integración de la acuicultura en la agricultura (LIGHTFOOT 1990). La diversificación lleva aparejada la aplicación de los **principios de complementariedad, que son fundamentales para un incremento de la rentabilidad de los agrosistemas, puesto que reducen los riesgos económicos al diversificar el sistema productivo.**

Si tenemos en cuenta los planteamientos actuales de la mejora genética y la biotecnología, parece que el futuro de la agricultura está en la transformación de los organismos vivos, mediante la creación de organismos transgénicos, para resolver los problemas de plagas y enfermedades a través del uso de plantas y animales resistentes, así como problemas de fertilidad de suelo mediante el empleo de rizobacterias modificadas genéticamente, que actúan como organismos **mejoradores del suelo o inductores de resistencia en las plantas** (AGRAWAL *et al.* 1999, BAREA *et al.* 2004, KAVROULAKIS *et al.* 2005, WALTERS *et al.* 2005). Se resolverán también problemas de estrés ambiental, a través de la resistencia de las plantas a la salinidad y la sequía.

La capacidad creativa de los científicos ha soslayado que es más fácil intervenir en el ambiente, partiendo del conocimiento de la biología y ecología, tanto de los patógenos como de los organismos mejoradores del suelo, a través de prácticas agrarias que permitan regular sus poblaciones (BELLO *et al.* 1994a,b). Por otro lado, los problemas de estrés ambiental por sequía y salinidad se pueden regular con la implantación de métodos de manejo del suelo. Pero sobre todo, mediante la selección de cultivos adaptados a cada región geográfica, y no con sistemas globalizados que sólo se pueden mantener con altos costes energéticos. El sentido común hace que nadie pretenda cultivar plátanos en Holanda o café en Escandinavia.

Conviene no olvidar la gran capacidad de adaptación de los organismos parásitos. Ello propicia que continuamente aparezcan poblaciones más virulentas como consecuencia de la presión selectiva de las plantas resistentes (ROBERTSON *et al.* 2006). Esto suele ocurrir en un período limitado de tiempo, con frecuencia inferior a los cinco años, por lo que **se puede afirmar que la mejora vegetal no es una buena alternativa en el manejo de los patógenos** (CUBERO 1998), **si no se aplica con criterios agronómicos. Las plantas resistentes y los agentes biológicos de control deben utilizarse con racionalidad, pues de otro modo pueden carecer de interés para la solución urgente de problemas.** Por último, no olvidar los **riesgos de contaminación biológica**, que debido a la capacidad de reproducción de los organismos vivos, que pueden ser más graves que la contaminación química.

1.1.2. Empleo de recursos locales

En agricultura se deben reducir los gastos de energía utilizada en el transporte, por lo que las alternativas seleccionadas deben basarse en el uso de recursos locales. Estos aspectos se olvidan con frecuencia en los consumidores de productos ecológicos, que prefieren comprar lentejas ecológicas de Canadá, evitando así los residuos de pesticidas, pero olvidándose de los gastos de energía y del impacto ambiental que produce su transporte.

La utilización de recursos locales se basa en el análisis de nuestro entorno y en la selección con criterios ecológicos de aquellos elementos o procesos que son relevantes para mantener la capacidad de autorregulación del agrosistema. El mejor ejemplo es la utilización de materiales depositados en las ramblas o en áreas de dunas, para la creación de sistemas de enarenados, uno de los elementos claves de la agricultura en Almería, junto con el diseño de invernaderos tipo parral, fundamentados en la creatividad de los agricultores (LÓPEZ-GÁLVEZ & NAREDO 1996). También existe la posibilidad de rentabilizar los restos agrarios para ser aplicados en procesos de biofumigación o biodesinfección de suelos para el manejo de patógenos o en la fertilización de suelos.

Los ejemplos presentados en el caso de Almería permiten generalizar un principio para la gestión de los agrosistemas, que se fundamenta en la capacidad creativa para transformar los factores limitantes en elementos claves para el funcionamiento de los agrosistemas. Uno de los ejemplos más claros es la utilización en Canarias de las cenizas volcánicas, que se originan a partir de uno de los factores limitantes más destructivos, como es el caso de la acción del fuego o de las cenizas del volcanismo. Estos materiales pueden ser utilizados para construir sustratos de origen natural que pueden aplicarse en agricultura, sin necesidad de importar estas tecnologías de los países del Norte (GUNNLANGSSON & ADALSTEINSSON 1995).

1.1.3. La agricultura mediterránea como modelo agroecológico

La gestión de los sistemas agrarios mediante la utilización de criterios ecológicos se basa en un principio fundamental: la **diversificación del sistema**, que se entiende en un sentido amplio, puesto que no abarca sólo la diversidad biológica, sino también la diversidad ambiental y cultural de gestión (TELLO 2000, BELLO *et al.* 2003, 2008a). El modelo de prácticas agrarias, basada en la adaptación a las condiciones ambientales, está especialmente representada en la cultura agraria mediterránea, especialmente en la cultura árabe, que ha logrado transformar áreas semidesérticas en vergeles, a través del manejo de los factores ambientales, la adaptación a las distintas estaciones del año, mucho más contrastadas que en los ambientes tropicales o en los países templados y, sobre todo, su capacidad de armonizar agricultura y ganadería con la conservación del territorio, que en la Península Ibérica ha dado lugar al paisaje más genuino y representativo: “la dehesa”. **La diversificación de los sistemas agrarios no sólo reduce los costes de producción, sino que por su función de complementariedad puede incrementar los rendimientos.**

Los principios de diversidad y complementariedad como base ecológica para la gestión de los agrosistemas, aparecen recogidos en el diseño de sistemas de producción integrada o ecológica. En el caso de la protección vegetal, partiendo del conocimiento de los ciclos biológicos de los parásitos o patógenos, se pueden diseñar sistemas de producción con plantas de ciclo corto, que pueden actuar como “plantas trampa” y que, en el caso concreto de la biodesinfección de suelos, pueden servir como bioindicadores para conocer la eficacia del tratamiento, determinar si existe efecto fitotóxico e incluso si actúan como biofumigantes. Se puede introducir a continuación un cultivo de ciclo largo, por ejemplo con cultivares de tomate portadores de genes de resistencia, que reducen las poblaciones de patógenos que pudieran permanecer después de desinfectar el suelo, cubriendo el suelo con materiales de origen vegetal en los períodos más cálidos para evitar la pérdida de resistencia en la planta, cuando la temperatura del suelo supera los 27 °C. Al año siguiente, una vez reducidas las poblaciones de patógenos, se pueden utilizar cultivos susceptibles (BELLO 1998).

1.1.4. Ecología e investigación agraria

En España, la producción agraria con criterios ecológicos es todavía minoritaria, ya que la toma de conciencia hacia estas alternativas está restringida a grupos de personas que proceden del movimiento ambientalista, convencidos de las implicaciones de la agricultura en la conservación del ambiente, y a un grupo reducido de agricultores que carece de apoyo científico y técnico. No obstante, se observa últimamente un cambio, en la agricultura sostenible o en la producción integrada, que intentan aplicar de modo más racional la tecnología disponible, aunque todavía desde planteamientos reduccionistas, que siguen ocasionando impactos negativos sobre el ambiente. Además, en la mayoría de los casos, se trata de una tecnología importada. Esta circunstancia asume riesgos graves, ya que las características ambientales de los países donde se han desarrollado esta tecnología son muy diferentes a las de nuestros cultivos.

¿Cuál es la dependencia tecnológica de nuestro país en el ámbito agrario? ¿Qué importancia económica tienen la importación de tecnología?. Debemos resaltar que la gran mayoría de los mejoradores orgánicos, sistemas de riego, semillas, plaguicidas, etc. proceden del extranjero. En este sentido, cabe señalar que la aplicación de criterios ecológicos en los sistemas agrarios en nuestro país, depende en muchos casos de la capacidad creativa de nuestros agricultores y ganaderos. Creemos necesario un cambio profundo y global en los planteamientos de investigación, que sin perder la calidad de la producción científica, responda a las necesidades de nuestra agricultura y ganadería. Para ello, es fundamental el desarrollo de una **investigación participativa**, donde los científicos tengan un conocimiento directo de los

factores limitantes de nuestra producción agraria y cuyos resultados permitan el diseño de una tecnología con una visión global. Es necesario introducir criterios fundamentados en la ecología para la gestión de los sistemas agrarios. No debemos olvidar los fracasos de las grandes revoluciones agrarias, basadas en la química y la biología. Lo mismo puede ocurrir con la biotecnología y la agroenergética, si en el futuro no es posible armonizar el conocimiento científico con nuestra realidad agraria (BELLO *et al.* 2008a).

En el ámbito de la ortodoxia reduccionista, se suele presentar la ecología como la ciencia que sólo se preocupa de la conservación de determinadas especies animales o vegetales. Nada más lejos de la realidad, la ecología constituye un cuerpo de doctrina que trata de desentrañar la complejidad instalada en los ecosistemas y los procesos que autoorganizan dicha complejidad. En ese contexto, la agroecología proporciona las claves para un manejo adecuado de los sistemas agrarios que no son otra cosa que ecosistemas simplificados por la actividad humana, para dirigir una buena parte de la producción primaria hacia productos que satisfagan sus necesidades como alimentos, fibras, etc. (MONTSERRAT 1961, 2009).

Por otro lado, la agricultura es considerada en muchos foros como una de las prácticas del ser humano más impactantes sobre el medio ambiente, que ha creado problemas de dimensiones globales como la contaminación difusa de los suelos o la destrucción de la capa de ozono con la aplicación del BM. Sin embargo, mediante la aplicación de buenas prácticas agrarias podemos enmendar esa percepción, ya que la agricultura puede ayudar a resolver problemas de impacto ambiental al permitir, por ejemplo, reutilizar los residuos agroindustriales en el manejo de organismos patógenos de los vegetales o en la obtención de agrocombustibles. Este ejemplo se puede hacer extensivo a la reutilización de las aguas residuales o residuos urbanos.

Como confirmación del interés de estos planteamientos, debemos hacer alusión a las conclusiones del Simposium sobre “cultivos protegidos” celebrado en Cartagena y Almería en el año 2000, concluyendo que la estrategia de futuro “pasa por la ayuda a salvaguardar y mejorar la sostenibilidad económica y ambiental, mediante la conservación de los recursos naturales y productivos, como agua y suelo, reducir la utilización de agua, pesticidas y fertilizantes, mejorar el manejo de los componentes técnicos de invernaderos para reducir el uso de recursos, a través de la selección de plantas y cultivos, reducir el estrés de las plantas mediante cambios en los niveles de temperatura y humedad, uso de estiércol o subproductos para el control de enfermedades como es el caso de la solarización y biofumigación, regular la diseminación de patógenos y potenciar los organismos antagonistas de patógenos. Ninguna estrategia es resolutoria “*per se*”, siendo necesario un esfuerzo de integración” (RODRÍGUEZ 2000).

El futuro de la agricultura estará condicionado por una preocupación cada vez mayor por el medio ambiente, la conservación de los recursos naturales, la salud de las personas y una mayor contribución a la reducción de la pobreza (MCCALLA 1999). Por todo ello, conviene no olvidar que la Agricultura hay que plantearla como “una forma de vida” y, sobre todo, que sus problemas no sólo afectan a los agricultores, sino que por sus repercusiones se extienden al conjunto de la sociedad.

1.2. BROMURO DE METILO, PROBLEMÁTICA Y RETIRADA

El BM ha sido ampliamente utilizado en el mundo abarcando múltiples usos que incluyen la fumigación de suelos, fumigación de granos almacenados, tratamientos para organismos de cuarentena, tanto de exportación como de importación, y la fumigación de estructuras y edificios, conocida como “fumigación estructural” (BARRES *et al.* 2006). Se debe resaltar que **de la cantidad total de producto aplicado al suelo, se pierde en la atmósfera aproximadamente un 87% en tan sólo siete días** y, al alcanzar la estratosfera, sufre una foto-oxidación, liberando átomos de bromo que son responsables de la reducción total de ozono (OHR *et al.* 1996). En el trabajo de YAGI *et al.* (1993) se destaca la elevada eficiencia de la destrucción de ozono mediante bromo a través de la reacción $\text{ClO} + \text{BrO} \rightarrow \text{Br} + \text{Cl} + \text{O}_2$, así como el potencial de destrucción del ozono por átomos de bromo en la estratosfera, que puede ser entre 30-60 veces la de un átomo de cloro. Debido a estos problemas de destrucción de la capa de ozono estratosférico el Protocolo de Montreal, creado en 1987, para el estudio de las sustancias que agotan la capa de ozono del Programa de Naciones Unidas (NNUU) de Medio Ambiente (PNUMA), mediante la Enmienda de Copenhague de 1992, incluyó el BM en la lista de sustancias que agotan la capa de ozono estratosférico (BARRES *et al.* 2006).

Posteriormente, en 1995 en la reunión de Viena, se introdujeron medidas de control aplicables a países en desarrollo, así como un calendario de eliminación. En 1995 se realizó así mismo por un comité *ad hoc*, el Comité de Alternativas Técnicas al BM (MBTOC, *Methyl Bromide Technical Options Committee*), un informe de evaluación MBTOC (1995), que aportó una visión global de la situación del BM y sus alternativas.

En la Novena Reunión de las Partes del Protocolo celebrada en Montreal en 1997, se desarrolló la Enmienda de Montreal con un programa mundial con fecha de eliminación del BM el 1 de enero de 2005 en el caso de los países **desarrollados (Países no Art.5)**, y el 1 de enero de 2015 en el caso de **países en vías de desarrollo (Países Art.5)**. También se acordó un programa de reducción del uso del BM hasta su plena eliminación, salvo en casos muy

concretos, como por ejemplo, los QPS (“*Quarantine and Pre-shipment*”, cuarentena y pre-embarque) o los denominados “usos críticos” (CUN’s *Critical Use Nomination*), moratorias temporales para aquellos sectores en los que se demuestre que no hay alternativa al BM (BARRES *et al.* 2006).

España ha estimado en 1995 un consumo de BM para usos agrícolas de 4.238,56 t, según encuesta efectuada entre las Comunidades Autónomas por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (NOVAL ALONSO 2004). A partir de esta fecha estas cantidades han experimentaron una evolución decreciente, tanto en lo relativo a los tipos de cultivos para los que se utiliza el BM, áreas geográficas en las que se practicaba la fumigación con BM, como en las cantidades (dosis y formulaciones) que se utilizan por unidad de superficie en los cultivos para los que no se había encontrado una alternativa o sistema alternativo eficaz. Los consumos de BM en 1995 incluyen los de los cultivos de tomate (Alicante, Almería, Murcia), patata (Valencia), judías verdes (Almería), calabacín (Almería), melón (Almería), sandía (Almería, Valencia), pepino (Almería), pimiento (Murcia, Alicante, Almería), zanahoria (Cádiz), otras hortalizas (Cádiz, Valencia, Barcelona), flor cortada (Cádiz, Sevilla, Barcelona), producción de fresa (Huelva, Barcelona, Mallorca), viveros de fresa (Segovia, Ávila, Navarra, Palencia, Huelva, Valladolid) y algún uso menor en cítricos (BELLO *et al.* 2000). A partir del 1 de enero 2005 quedó prohibida la utilización del BM en agricultura en España, salvo para los usos definidos como críticos para el país, que fueron de 1.059 t (BELLO & DíEZ-ROJO 2005).

Los usos críticos asignados a España, disminuyeron en cantidad hasta el año 2008 donde a España sólo se le asignaron 200,176 t, principalmente para los viveros de fresa de altura. El Diario Oficial de la UE publicó la decisión de la Comisión de 25 de marzo de 2008 por la que se determinan las cantidades de BM que se pudieran usar en la UE desde el 1 de enero al 31 de diciembre de 2008, de conformidad con el reglamento (CE) nº 2037/2000 sobre las sustancias que agotan la capa de ozono, retirándose definitivamente de su uso el año 2009. La situación mundial del uso de BM se recoge en las Tablas 1.1-2 las cuales se observa que los usos críticos para los Países no-Artículo 5 van disminuyendo progresivamente hasta el 2011. EE UU, Israel y Japón son los países con las cantidades más altas de usos críticos asignados (MBTOC 2008, 2009, 2010).

Al igual que ocurre con el BM, muchos de los fumigantes que se pueden utilizar en agricultura están regulados y algunos de los más efectivos se ha prohibido su uso por que causan problemas ambientales (GULLINO *et al.* 2003).

Tabla 1.1. Solicitudes de BM (t) en desinfección de suelos por cultivos, países no Artículo 5 (años 2009 a 2012) (MBTOC 2009, 2010).

| Solicitudes Cultivos | Países | Años | | | | |
|---|-----------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| | | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 |
| 1. Batatas | 1.1 Israel | 111,50 | 95,0 | 20,0 | 20,0 | 0 |
| | 1.2. EE UU | 18,144 | 18,144 | 14,515 | 11,612 | 8,709 |
| | Subtotal | 129,644 | 113,144 | 34,515 | 31,612 | 8,709 |
| 2. Berenjenas | 2.1. EE UU | 66,018 | 48,691 | 32,820 | 19,725 | 6,904 |
| 3. Cucurbitáceas | 3.1. EE UU | 486,757 | 407,091 | 302,974 | 195,698 | 59,50 |
| 4. Flor cortada campo | 4.1. Israel | 44,750 | 34,698 | 28,554 | 23,292 | 0 |
| 5. Flor cortada & bulbos protegido | 5.1. Israel | 114,450 | 85,431 | 63,464 | 52,335 | 0 |
| 6. Forestales viveros | 6.1. EE UU | 131,208 | 122,060 | 117,826 | 93,547 | 34,230 |
| 7. Fresas producción | 7.1. Israel | 105,960 | 77,750 | 57,063 | 41,875 | 0 |
| | 7.2. EE UU | 1.349,575 | 1.269,321 | 1.007,477 | 812,709 | 756,515 |
| | Subtotal | 1.455,535 | 1.347,071 | 1.064,540 | 854,584 | 756,515 |
| 8. Fresas viveros | 8.1. Australia | 35,750 | 29,790 | 29,790 | 29,790 | 29,760 |
| | 8.2. Canadá | 7,462 | 7,462 | 7,462 | 5,261 | 5,261 |
| | 8.3. España | 200,176 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 8.4. Israel | 31,90 | 28,075 | 22,320 | 27,0 | 0 |
| | 8.5. Polonia | 12,0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 8.6. EE UU | 8,838 | 7,944 | 6,708 | 6,036 | 3,752 |
| Subtotal | 296,026 | 73,271 | 66,280 | 68,087 | 38,773 | |
| 9. Frutales & viñedo replantación | 9.1. EE UU | 393,720 | 292,756 | 215,80 | 183,232 | 18,324 |
| 10. Frutales & flores viveros | 10.1. EE UU | 51,102 | 25,326 | 17,363 | 7,955 | 1,591 |
| 11. Jengibre campo | 11.1. Japón | 84,075 | 63,056 | 53,40 | 47,450 | 42,235 |
| 12. Jengibre protegido | 12.1. Japón | 11,10 | 8,325 | 8,30 | 7,036 | 6,558 |
| 13. Jopo control | 13.1. Israel | 250,0 | 125,0 | 12,50 | 12,50 | 0 |
| 14. Melón | 14.1. Israel | 87,50 | 87,50 | 70,0 | 35,0 | 0 |
| | 14.2. Japón | 136,650 | 91,10 | 81,720 | 73,548 | 67,936 |
| | Subtotal | 224,150 | 178,60 | 151,720 | 108,548 | 67,936 |
| 15. Ornamentales | 15.1. EE UU | 138,538 | 107,136 | 84,617 | 64,307 | 48,164 |
| 16. Patatas | 16.1. Israel | 93,750 | 75,50 | 0 | 0 | 0 |
| 17. Pepino | 17.1. Israel | 0 | 0? | 15,937 | 12,50 | 0 |
| | 17.2. Japón | 51,450 | 34,30 | 30,690 | 27,621 | 26,162 |
| | Subtotal | 51,450 | 34,30 | 46,627 | 40,121 | 26,162 |
| 18. Pimientos | 18.1. Japón | 121,725 | 81,149 | 72,990 | 65,691 | 61,154 |
| | 18.2. EE UU | 756,339 | 548,984 | 463,282 | 206,234 | 28,366 |
| | Subtotal | 878,064 | 630,133 | 536,272 | 271,925 | 89,520 |
| 19. Sandía | 19.1. Japón | 32,475 | 21,650 | 14,50 | 13,050 | 12,075 |
| 20. Tomate | 20.1. EE UU | 1.406,484 | 1.003,876 | 737,584 | 292,751 | 54,423 |
| | Total | 6.339,396 | 4.797,115 | 3.589,755 | 2.387,76 | 1.271,62 |

Si se analizan las solicitudes de Usos Críticos de BM para los Países no-Artículo 5, observamos que en el año 2011, EE UU es el país que pide para la gran mayoría de cultivos en los que lo utilizaba antes de que se aprobase su retirada. Destaca la petición de 292,751 t por parte de EE UU para el cultivo de tomate, por ser el único País no-Artículo 5 que lo solicita y la de Israel para el control de Jopo (12,500 t) en el año 2010 por no especificar el cultivo para el que se solicita. A su vez EE UU solicita 195,698 t para cucurbitáceas en el año 2011 sin especificar a qué especie van a ir destinadas. Japón, el tercero de los países que mayores cantidades ha solicitado para el 2011, ha elaborado un plan de acción para que su eliminación ocurra en el año 2013, mientras que ni en EE UU ni en Israel se lo han planteado. Este último país todavía no ha realizado ninguna petición para 2011, pero toda la información existente parece indicar que lo hará. La producción de fresas en EE UU parece ser todavía uno de los cultivos para los que todavía no se han encontrado alternativas, solicitando 812,709 t para el año 2011, mientras que Israel no ha determinado aún la cantidad que necesita. Por último, Japón sigue solicitando “Usos Críticos” en los cultivos de pimiento y pepino para problemas de virus transmitidos por hongos del suelo. Para el año 2012, en la actualidad, Israel no ha realizado petición de usos críticos, mientras que Australia y Canadá siguen solicitando para los viveros de fresas las mismas cantidades que para el año 2011. Japón ha reducido un 8% sus peticiones para el año 2012 con respecto al 2011, evidenciándose una pequeña disminución en las cantidades para todos los cultivos que solicita usos críticos. EE UU disminuye en un 47% sus peticiones para el año 2012 con respecto al 2011, reduciéndose fuertemente las cantidades para cultivos como cucurbitáceas, pimientos, tomates o en la replantación de frutales (MBTOC 2010). Para el año 2013, todavía no se conocen las solicitudes de usos críticos para ninguno de los países que en la actualidad los solicitan, con la promesa de que Japón en 2013 lo elimina para su uso como fumigante de suelos. Para la eliminación total del BM como fumigante del suelo se deberían tener más en cuenta los años de experiencia en la búsqueda de alternativas y tratar de seleccionar alternativas similares a las que se vienen utilizando en aquellos países donde se ha dejado de utilizar BM como fumigante de suelos.

La reducción progresiva de los Usos Críticos de BM como fumigantes de suelos (Fig. 1.1) se ha debido principalmente al registro para los viveros de fresa del yoduro de metilo en Australia y de la cloropicrina en Canadá, además Israel ha reducido significativamente en un 90% la cantidad que tenía asignada para el control de jopo (de 125 a 12,5 t) para el año 2011. Japón ha efectuado un plan de reducción del 70% para el año 2011 y su posterior eliminación total en 2013. Los EE UU han reducido un 28% con respecto al año 2008, debido fundamentalmente al uso de la mezcla 1,3D + PIC y la reducción de dosis de BM mediante la

utilización de plásticos VIF. Por otro lado, destaca el aumento para el año 2010 de la cantidad asignada a Israel para el cultivo de pepino, esperando reducirla si se registra el uso de la cloropicrina y sus mezclas en este país. Además se ha informado de la existencia en 2008 de 5.381 t de BM almacenadas en EE UU, no existiendo ninguna información para el resto (MBTOC 2009).

Tabla 1.2. Solicitudes de Usos Críticos de BM (t) en desinfección de suelos por países no Artículo 5 (MBTOC 2009, 2010).

| Países y Cultivos | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 ⁽¹⁾ |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------|
| I. Australia: Fresas viveros | 29,790 | 29,790 | 29,760 | ¿? |
| II. Canadá: Fresas viveros | 7,462 | 5,261 | 5,261 | ¿? |
| III. Israel | | | | |
| 1. Batatas | 20,0 | 20,0 | 0 | 0 |
| 2. Flor cort. campo | 28,554 | 23,292 | 0 | 0 |
| 3. Flor cort. y bulbos prot. | 63,464 | 52,335 | 0 | 0 |
| 4. Fresas producción | 57,063 | 41,875 | 0 | 0 |
| 5. Fresas viveros ⁽²⁾ | 22,320 | 27,0 | 0 | 0 |
| 6. Jopo control (Señalar cultivo) ⁽²⁾ | 12,5 | 12,5 | 0 | 0 |
| 7. Melón | 70,0 | 35,0 | 0 | 0 |
| 8. Pepino (Nueva petición) ⁽²⁾ | 15,937 | 12,50 | 0 | 0 |
| Subtotal | 289,838 | 224,502 | 0 | 0 |
| IV. Japón | | | | |
| 1. Jengibre campo | 53,40 | 47,450 | 42,235 | 0 |
| 2. Jengibre prot. | 8,30 | 7,036 | 6,558 | 0 |
| 3. Melón | 81,720 | 73,548 | 67,936 | 0 |
| 4. Pepino | 30,690 | 27,621 | 26,162 | 0 |
| 5. Pimientos | 72,990 | 65,691 | 61,154 | 0 |
| 6. Sandía | 14,50 | 13,050 | 12,075 | 0 |
| Subtotal | 261,60 | 234,396 | 216,120 | 0 |
| V. EE UU | | | | |
| 1. Batatas | 14,515 | 11,612 | 8,709 | 0 |
| 2. Berenjena | 32,820 | 19,725 | 6,904 | ¿? |
| 3. Cucurbitáceas | 302,974 | 195,698 | 59,50 | ¿? |
| 4. Forestales viveros | 117,826 | 93,547 | 34,230 | ¿? |
| 5. Fresas producción | 1.007,477 | 812,709 | 756,515 | ¿? |
| 6. Fresas viveros | 6,708 | 6,036 | 3,752 | ¿? |
| 7. Frutales y viñedo repl. | 215,80 | 183,232 | 18,324 | ¿? |
| 8. Frutales y flores viv. | 17,363 | 7,955 | 1,591 | ¿? |
| 9. Ornamentales | 84,617 | 64,307 | 48,164 | ¿? |
| 10. Pimientos | 463,282 | 206,234 | 28,366 | ¿? |
| 11. Tomate | 737,584 | 292,751 | 54,423 | ¿? |
| Subtotal | 3.000,966 | 1.893,806 | 1.020,478 | ¿? |
| Total⁽³⁾ | 3.589,76 | 2.387,76 | 1.271,62 | ¿? |

(1) Pendiente confirmación; (2) se debe explicar porque la cantidad fue inferior en años anteriores; así como porque se aplica para el control de una planta parásita como el Jopo y porque en años anteriores no se solicitó BM; (3) se deben señalar las cantidades aun en remanentes y elaborar un plan de acción para la retirada definitiva del bromuro de metilo (BM); ¿? Pendiente confirmación.

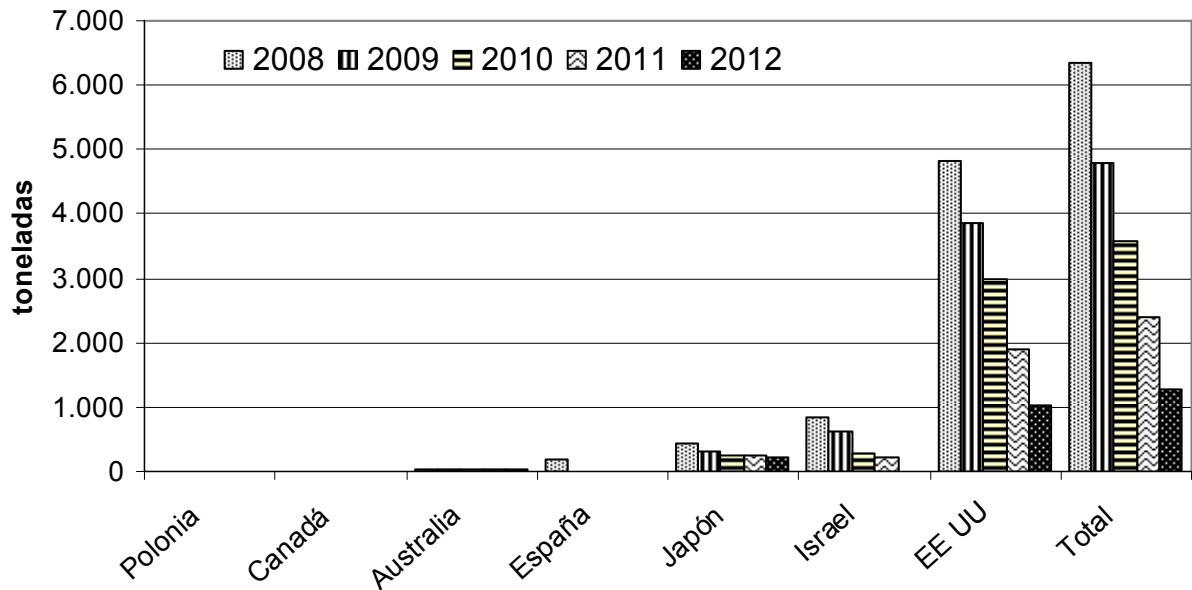


Figura 1.1. Usos Críticos de BM (t) por Países no-Art. 5 (años 2008 a 2012) según Tabla 1.1.

1.3. NEMATODOS FITOPARÁSITOS

Los nematodos son animales con una organización muy sencilla, con especies parásitas de plantas que pueden causar problemas graves en los cultivos, pero también existen nematodos **saprófagos** que favorecen la descomposición de la materia orgánica, **omnívoros** e incluso **depredadores**, o nematodos parásitos de animales, como los **entomopatógenos** que parasitan insectos, y pueden utilizarse en control biológico de plagas. Los nematodos se pueden encontrar en todos los lugares, el mar, agua dulce, suelo y partes aéreas de las plantas (NICKLE 1991). Son organismos muy abundantes en cualquier tipo de suelo.

Los nematodos son de forma y tamaño variado, unos son más o menos alargados y cilíndricos (**vermiformes**) otros tienen forma de pera o limón. El tamaño medio de los nematodos **vermiformes** es aproximadamente de un milímetro, y por ello son difíciles de ver a simple vista, aunque se pueden distinguir con facilidad los que forman quistes (*Heterodera*) y los formadores de nódulos (*Meloidogyne*). Los nematodos transmisores de virus (Longidóridos) son normalmente de gran tamaño, con varios milímetros de longitud, y los nematodos "anillados" (Criconemátidos) tienen tamaños inferiores a un milímetro. Sólo teniendo en cuenta las variaciones en la forma o el tamaño, podemos tener una gran cantidad de grupos diferentes, inclusive formas excepcionales, helicoidales y esféricas.

La función de la nematofauna es clave en los procesos relacionados con la actividad biótica del suelo, desempeñando una actividad destacada en los procesos de descomposición de las raíces de las plantas y su posterior transformación de los materiales orgánicos, contribuyendo a la renovación de los sistemas radicales de las plantas al ser unos de los pocos herbívoros que existen en el suelo (TELLO & BELLO 1994).

Los nematodos fitoparásitos se caracterizan por poseer **estilete**, que es una especie de aguja hipodérmica, provista de un conducto interior, y una musculatura que permite que el órgano sea retráctil y se pueda introducir dentro de la raíz y los tejidos de las plantas, para su alimentación (Fig.1.2). Dentro de **los fitoparásitos** hay dos grandes grupos: **los ectoparásitos**, de éstos hay unos que se alimentan sobre los pelos radicales y en las células epidérmicas de la raíz, con un estilete muy débil (*Tylenchus*), y otros que se alimentan de las células profundas de los tejidos, como **los transmisores de virus**, que poseen un estilete muy largo (*Longidorus* y *Xiphinema*); otros son **endoparásitos**, dentro de estos unos son sedentarios, principalmente los de forma esférica (*Heterodera* y *Meloidogyne*), y otros son móviles (*Pratylenchus*).

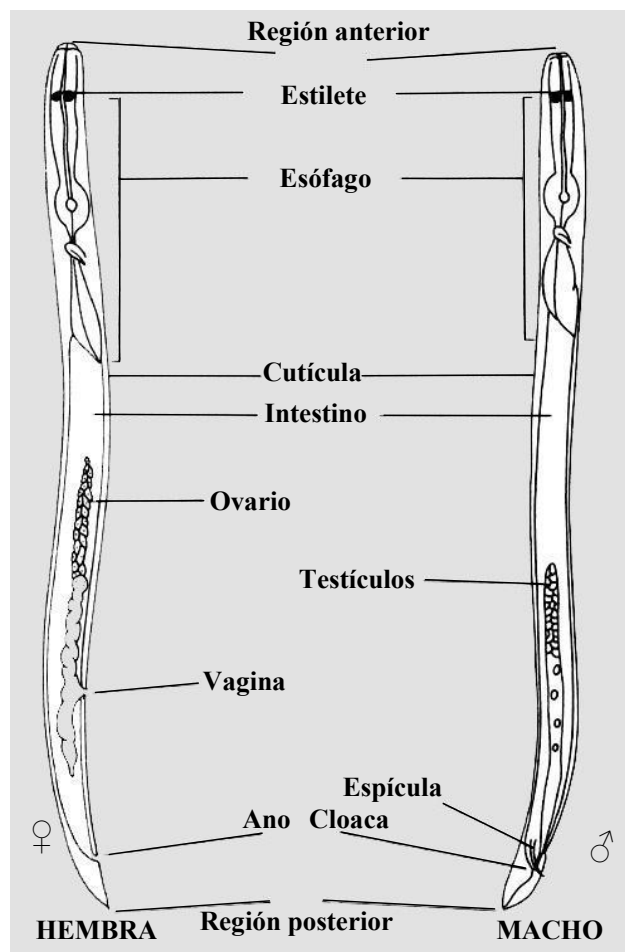


Figura 1.2. Características morfológicas de nematodos fitoparásitos.

El ciclo biológico de los nematodos se inicia en un huevo, con un período de incubación variable entre 20-30 días según la temperatura del suelo. Normalmente el ciclo se desarrolla en cinco estadios diferenciándose **cuatro fases juveniles** que acaban todas en una muda, para posteriormente dar lugar los individuos adultos, unas veces machos y otras hembras, produciéndose la cópula y cerrando el ciclo, aunque la mayor parte de las especies son partenogenéticas y pueden reproducirse sin presencia de machos. Como en todos los organismos hay dos estrategias reproductivas, la estrategia (**r**) que da lugar a la producción de un gran número de individuos en un corto período de tiempo, y la estrategia (**k**) que da lugar a una producción escalonada de individuos a lo largo de todo el año.

La mayor parte de los nematodos fitoparásitos que viven en el suelo son ecto o endoparásitos del sistema radicular de las plantas, pero algunos son parásitos de las partes aéreas (hojas, tallos, bulbos, flores, semillas). La sintomatología que producen puede ser muy variable, dependiendo de la especie de nematodo, el tipo y edad del hospedador, la parte afectada y las condiciones generales de crecimiento. Así, las plantas parasitadas por nematodos en su sistema radicular muestran en su parte aérea una sintomatología similar a la causada por estados nutricionales carenciales, aunque dependiendo del tipo de nematodo, se pueden observar en las raíces síntomas más específicos, tales como formación de nódulos (*Meloidogyne* spp.), pequeños engrosamientos en los ápices radiculares (nematodos vectores de virus: *Xiphinema* spp., *Longidorus* spp., *Trichodorus* spp.) o en las raicillas secundarias como *Tylenchulus semipenetrans* (nematodo de los cítricos), proliferación excesiva y crecimiento anormal de las raíces secundarias (*Heterodera* spp. y *Meloidogyne* spp.), necrosis en el punto de alimentación en nematodos ectoparásitos y en general en zonas necróticas, en el caso de los nematodos endoparásitos del género *Pratylenchus*, en especial cuando están en interacción con otros organismos patógenos como bacterias u hongos.

La acción patogénica de algunos organismos se favorece por **la interacción de los nematodos con otros organismos patógenos**. Los mecanismos de interacción son muy variados, unas veces son vectores activos de otros patógenos como es el caso de virus o pasivos para bacterias y hongos, originando heridas en las raíces que permiten el paso de patógenos secundarios que pueden llegar a ser la causa principal del problema, como es el caso de *Meloidogyne* y *Fusarium* en tomate, o incrementando la susceptibilidad del hospedador frente a ciertos patógenos al estimular la producción de exudados radiculares, en la interacción *Globodera* y *Verticillium* en patata. Es importante el hecho de que los nematodos contribuyen a la ruptura de resistencia de ciertas plantas frente a hongos. La ruptura de resistencia frente a *Fusarium* se incrementa por la acción de los nematodos que provocan la secreción de un exudado radicular que atrae al hongo, contribuyen a la inhibición

de los antagonistas, causan una elevada tasa de mutación e incrementan la virulencia del hongo e inducen cambios bioquímicos en la planta suprimiendo los inhibidores en los tejidos provocando un aumento de los nutrientes para el hongo (PAGE & BRIDGE 1980).

Las relaciones entre los nematodos fitoparásitos y los demás microorganismos suelen ser sinérgicas, es decir predisponen a las plantas frente a la acción de otros patógenos o las que hacen susceptibles frente a organismos que no parasitarían a las plantas. Se ha demostrado el valor regulador de las asociaciones hongos-nematodos, en cuanto a la intensidad del daño que producen estos organismos en las plantas (NORTON 1978, POINAR 1983). Se produce un cambio fisiológico, que tiene como origen la ruptura física del tejido radicular en el lugar donde el nematodo se alimenta. Es importante la interacción que se establece entre nematodos y micorrizas, ya que éstas además de facilitar a la planta la absorción de determinados nutrientes, aumentan su tolerancia frente a nematodos (NEEDHAM 1744).

Existe una amplia diversidad de nematodos parásitos de plantas, particularmente del Orden Tylenchida. Dentro de este Orden, en las familias Anguinidae, Heteroderidae, Meloidogynidae, Pratylenchidae, Rotylenchulidae y Tylenchulidae se encuentran los parásitos de mayor interés agrícola y forestal. Estas familias incluyen los géneros *Anguina*, *Ditylenchus*, *Globodera*, *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Mesocriconema* (sin.: *Criconemella*), *Nacobbus*, *Pratylenchus*, *Radopholus*, *Rotylenchulus*, así como *Tylenchulus*, a los que pertenecen las especies que causan las pérdidas más significativas en la producción de diversos cultivos. Dentro del Orden Dorylaimida los géneros *Longidorus* y *Xiphinema*, son los que poseen las especies fitoparásitas de importancia económica, mientras que dentro del Orden Triplonchida los géneros *Paratrichodorus* y *Trichodorus* son de interés por ser transmisores de virus (SIDDIQI 2000).

El género *Meloidogyne* presenta los mayores problemas en el manejo de sus poblaciones y para el que mundialmente hasta la fecha se había venido utilizando BM (Tabla 1.3). El siguiente grupo de nematodos con impacto negativo en la producción de cultivos se refiere a los géneros *Globodera* y *Heterodera* (BARRES *et al.* 2006). El MBTOC (2002) ha considerado en sus informes sobre la relación de nematodos fitoparásitos para los que se ha utilizado BM en uno o más países el género *Xiphinema* y no ha considerado los géneros *Longidorus*, *Paratrichodorus* y *Trichodorus*.

Tabla 1.3. Nematodos para los que se utilizaba BM (MBTOC 2002).

| Géneros | América Norte | Centro-América Sudamérica | Norte de Europa | Región Mediterránea | África Subsahariana | Asia | Australasia |
|----------------------|------------------|------------------------------|--------------------|------------------------|------------------------|------|-------------|
| <i>Meloidogyne</i> | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Rotylenchulus</i> | + | + | - | - | - | + | - |
| <i>Xiphinema</i> | + | + | - | - | - | - | - |
| <i>Belonolaimus</i> | + | - | - | - | - | - | - |

Para la identificación y descripción de nematodos es esencial el estudio de la morfometría, siendo necesaria la valoración precisa de distintos parámetros y calcular determinados índices, tales como la longitud total del cuerpo y del estilete, posición de la vulva y del ano en las hembras o de la cloaca en los machos, etc. que pueden medirse directamente mediante la utilización de un micrómetro ocular (HUNT 1993, SIDDIQI 2000). A continuación nos vamos a centrar en la descripción de los principales problemas fitonematológicos en España:

1. Nematodos formadores de nódulos. Son endoparásitos sedentarios que producen nódulos en las raíces. Este grupo está representado por los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Destacan por su importancia económica, causando daños en hortícolas, industriales, ornamentales y árboles frutales (BELLO 1983). En este género se pueden distinguir un grupo de especies adaptadas a los ambientes templados como es el caso de las especies de cuarentena *M. chitwoodi* y *M. fallax*, esta última citada en Canarias (BELLO *et al.* 2008b), y *M. hapla*, así como por otro grupo de especies termófilas como *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* que aparecen parasitando fundamentalmente cultivos hortícolas, ornamentales, frutales e industriales. Se debe matizar que *M. javanica* se localiza principalmente en el litoral mediterráneo y Canarias aunque no se ha encontrado en la Comunidad Valenciana. Las características peculiares del clima mediterráneos continental con temperaturas por debajo de 20 °C de octubre a mayo y superiores a 40 °C en verano limitan el desarrollo de *Meloidogyne* a un sólo mes. Los problemas surgen cuando cambiamos el cultivo de secano por un cultivo hortícola, puesto que con el riego se produce un aumento de los niveles de humedad, que es un factor determinante en el desarrollo de las poblaciones de estos nematodos. El manejo de los nematodos formadores de nódulos presenta dificultades debido a que son **polífagos**, por lo que es necesario elaborar técnicas agronómicas de manejo o utilizar control químico.

2. Nematodos formadores de quistes. Se encuentran representados por los géneros *Globodera* y *Heterodera*. Las hembras se enquistan para sobrevivir a los cambios ambientales. Destacan *H. schachtii* específico de las quenopodiáceas y de algunas crucíferas,

H. avenae específico de las gramíneas y *G. rostochiensis* y *G. pallida* específicos de las solanáceas. Del género *Heterodera* se han citado varias especies en la Región Mediterránea, aunque *H. avenae*, parásito específico de los cereales y *H. schachtii* parásito de la remolacha crean problemas graves en las zonas cerealistas y remolacheras de Castilla y León (ROMERO 1982, LÓPEZ-ROBLES 1988). *H. goettingiana* y *H. trifolii* tienen interés al parasitar diferentes especies de leguminosas (JIMÉNEZ-MILLÁN *et al.* 1965). La incidencia de *G. rostochiensis* es mayor que la de *G. pallida*, aunque ambas están distribuidas ampliamente en la Cuenca Mediterránea, su distribución en España no muestra ninguna regularidad geográfica. Las poblaciones estudiadas en España de *G. rostochiensis* corresponden a Ro1 y las de *G. pallida* parece que podrían incluirse en Pa2 (MARTÍNEZ BERINGOLA *et al.* 1987a,b), seleccionándose con el cultivo de variedades de patata resistentes *G. pallida*. Los nematodos formadores de quistes se puede controlar con los sistemas de rotación y a través de variedades resistentes, pero el uso continuo de clones de patatas de siembra resistentes hace que se seleccione *G. pallida* que es mucho más virulenta. Los nematodos formadores de quistes sólo plantean problemas en una agricultura productivista "super-especializada", donde predomina el monocultivo durante varios años, lo que requiere para su mantenimiento la aplicación de grandes dosis de biocidas. Se caracterizan por ser **específicos** y para su control se pueden utilizar variedades o cultivos resistentes, a través de sistemas de rotación, aunque en algunos casos pueden dar lugar a la aparición de nuevas razas.

3. Nematodos transmisores de virus. Son nematodos ectoparásitos obligados con una gran gama de hospedadores, que no son patógenos en sí mismos y cuya importancia reside en el hecho de que pueden transmitir virus y actuar como reservorios al ser capaces de retenerlos durante largos períodos en ausencia de planta hospedadora. Los nematodos adquieren el virus al alimentarse de material vegetal infectado. La transmisión a una planta sana se efectuará a través del estilete. Estos nematodos presentan comportamientos diferentes en cuanto a protección vegetal, si nos referimos a poblaciones y niveles de daño, ya que basta que un solo individuo sea portador del virus, para que se desarrolle la enfermedad. Para controlar este tipo de virosis es necesario una reducción o eliminación de las fuentes de infección de los virus produciendo plantas libres de virus, aplicando técnicas de detección rápidas y fiables, tales como ELISA o PCR o la no introducción de plantas susceptibles en terrenos infestados. La aplicación de nematicidas no suele ser efectiva, ya que los nematodos vectores pueden llegar a estar a una profundidad superior al metro y medio, donde los tratamientos químicos no les afectan (LAMBERTI *et al.* 1974, ALPHEY & TAYLOR 1986). Entre los transmisores de Nepovirus se ha encontrado en España *Xiphinema diversicaudatum* y *X. coxi* que son frecuentes en ecosistemas naturales de vegetación atlántica, *X. index*, vector de "grapevine fanleaf virus" (GFLV) y *X. italiae* que aparecen en cultivos de cereales y frutales. Entre los

vectores de Tobravirus han aparecido *Paratrichodorus minor*, *Trichodorus primitivus*, *T. cylindricus* y *T. viruliferus* que están asociados a bulbos, maíz, trigo y tubérculos (BELLO *et al.* 1994a,b).

4. Nematodo de los cítricos (*Tylenchulus semipenetrans*). Los problemas fitonematológicos en los cítricos se centran en *T. semipenetrans*. Las raíces infectadas presentan una coloración oscura debido a que las partículas de tierra se adhieren a la gelatina que segregan las hembras para proteger los huevos formando una "especie de nidos", diferenciándose perfectamente de las raíces sanas. Este patógeno también se ha citado en viña y olivo, causando en ciertos casos problemas. Se han descrito tres biotipos distintos tomando como hospedadores diferenciales rutáceas resistentes al patógeno (*Poncirus trifoliata*) y olivo. La incidencia de este nematodo ha sido objeto de amplios estudios que llegan a la conclusión de que aunque existan elevadas densidades de población "no causan graves problemas en cítricos", siempre que los factores ambientales no incidan de modo negativo en la función de las micorrizas. Actualmente aparecen problemas en la replantación, debidos al paso de una agricultura diversificada a una industrializada. En las plantaciones nuevas el crecimiento es pobre y lento, el vigor reducido, e incluso la planta muere. La distribución de *T. semipenetrans* en España coincide prácticamente con la distribución de los cultivos de cítricos (BELLO *et al.* 1985).

5. Nematodos de las partes aéreas. Normalmente todo este grupo son nematodos "fungívoros", pero pueden actuar como patógenos. Origina problemas graves *Ditylenchus dipsaci* en ajos, patatas, remolacha y leguminosas. Ascenden por las gotas de rocío a la parte aérea de la planta, produciendo deformaciones en hojas y tallos. Otra especie que parasita patatas es *D. destructor* que produce problemas graves en las zonas húmedas de Europa. Hay otros nematodos pertenecientes al género *Anguina* que parasitan la parte aérea y los granos de gramíneas, especialmente en cereales y, por último, *Aphelenchoides fragariae* en fresas y plantas ornamentales (BELLO *et al.* 1994a,b), así como *Bursaphelenchus xylophylus* en los pinos (ROBERTSON *et al.* 2008).

6. Endoparásitos. Son nematodos migratorios endoparásitos polífagos, que incluyen nematodos vermiformes que tienen la región labial plana y un estilete fuerte que les permite romper la membrana celular, penetrar en las células y moverse a través de los tejidos corticales de la raíz, siendo el género *Pratylenchus* el más representativo en España. Las plantas infectadas muestran síntomas de clorosis y falta de vigor, apareciendo en las raíces necrosis y heridas. En los ambientes mediterráneos las especies de *Pratylenchus* y afines no suelen causar problemas graves, salvo en agrosistemas muy artificializados. Dentro del género hay que destacar *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. goodeyi* y *P. zaeae* frecuentes en ambientes

tropicales y entre las especies de ambientes templados se han citado en España *P. crenatus* asociada a cereales, frutales y olivo, *P. neglectus* y *P. thornei* son frecuentes en muchos cultivos, especialmente cereales y leguminosas, mientras que *P. penetrans* y *P. vulnus* causan daños en frutales de hueso (BELLO *et al.* 1994a,b).

7. Nematodos micófagos. Algunos nematodos que se alimentan de hongos (micófagos), son patógenos de los champiñones. Las especies que pueden afectar negativamente al cultivo del champiñón son *Ditylenchus myceliophagus* y *Aphelenchoides composticola*. También se pueden señalar alrededor de 10 especies de *Aphelenchoides* que se alimentan de las hifas de los hongos por lo que pueden considerarse potencialmente patógenos. Recientemente en algunos países de Europa se han originado problemas por la aparición de saprófagos como *Caenorhabditis elegans* en los cultivos de hongos. Aunque en algunos casos se ha aconsejado el uso de nematicidas, los problemas pueden controlarse mediante medidas preventivas (BELLO *et al.* 1994a,b).

8. Nematodos ectoparásitos. De las especies de nematodos ectoparásitos pocas se ha demostrado que sean patógenas en sentido estricto. En general estos nematodos no causan problemas graves, pero como forman parte del conjunto de nematodos que rodean las raíces de las plantas pueden tener una función importante en la aparición de fenómenos de estrés al interactuar con otros organismos. En nuestro país, debido a las especiales características ambientales que influyen sobre sus poblaciones, no causan problemas. Únicamente señalar entre los nematodos "anillados" (Criconemátidos) la especie *Macroposthonia xenoplax* que puede ocasionar problemas de clorosis en vid y en frutales de hueso, así como *M. curvata* en claveles (GUIRAN DE 1961). Entre los Hoplolaímidos, *Helicotylenchus multicintus* plantea problemas en los cultivos de platanera de Canarias, que es una especie de ambientes tropicales, aunque también se ha citado en la península (BELLO *et al.* 1994a,b).

1.3.1. Nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*

El género *Meloidogyne* Goeldi, 1892 (Nematoda: Heteroderidae) está formado por los denominados "nematodos formadores de nódulos". Se trata de un grupo de nematodos del suelo de gran importancia económica debido a que causan las pérdidas más significativas en la producción de diversos cultivos (SIDDIQI 2000). Estos nematodos son endoparásitos sedentarios que producen nódulos en las raíces. Tienen la capacidad de infectar las raíces de numerosas plantas, con un rango de hospedadores que comprende más de 3.000 especies vegetales diferentes (ABAD *et al.* 2003), por lo tanto se pueden considerar en general como polífagos. El daño que ocasionan a los vegetales se debe principalmente a la alteración de los

tejidos vasculares de la raíz, que reduce sustancialmente la absorción de nutrientes y agua, con el consiguiente debilitamiento de la planta y disminución del rendimiento (ORTON WILLIAMS 1972, 1973, 1974, 1975, SIDDIQI 2000, ABAD *et al.* 2003). Además, los efectos negativos de *Meloidogyne* se agravan en algunas ocasiones por interacciones con otros patógenos. Para España se ha calculado que las pérdidas anuales ascienden a unos 905 millones de euros, de los cuales un 40% corresponde a las pérdidas en cultivos hortícolas. En segundo lugar están las pérdidas en cereales (21% de pérdidas), seguidos por los frutales (14%), cítricos (10%) y patatas (6%), con el porcentaje restante (9%) correspondiendo a remolacha azucarera, vid, olivo y leguminosas (BELLO *et al.* 1997a,b). Además se debe resaltar que los nematodos del género *Meloidogyne* están incluidos por el MBTOC (2002) en el listado de fitoparásitos para los que se ha utilizado BM en uno o más países en el año 2001, constituyendo en diversos cultivos y países uno de los problemas de importancia en razón del cual se han solicitado usos críticos de BM, particularmente en áreas de suelos arenosos. En el sur de Europa, en España, Grecia, Italia y Portugal se ha descrito la presencia de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* como un problema de importancia económica en diversos cultivos (BARRES *et al.* 2006).

Los nematodos formadores de nódulos son **endoparásitos sedentarios**, cuyo síntoma más característico es que producen nódulos en las raíces de las plantas a las que parasitan, destacando su importancia en cuanto al daño que causa en cultivos hortícolas, industriales, ornamentales y frutales (BELLO *et al.* 2000, PIEDRA BUENA 2004). En este género se pueden distinguir un grupo de especies adaptadas a bajas temperaturas como es el caso de *M. hapla* y de las especies de cuarentena *M. chitwoodi* y *M. fallax*, cuya epidemiología no se conoce en España. Otro grupo son especies termófilas como *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* que aparecen parasitando fundamentalmente cultivos hortícolas, ornamentales, frutales e industriales.

1.3.1.1. Características morfológicas del género *Meloidogyne*. Las hembras adultas son de formas redondeadas a piriformes, blancas, sedentarias, con un cuello corto que se proyecta, no presentando fase de quiste. En el extremo posterior la vulva y el ano están próximos, rodeados de un patrón cuticular característico (patrón perineal), que es diferente según la especie. Los fasmidios se abren en forma de poro, a cada lado del ano, levemente elevados. La cutícula es gruesa y estriada. El estilete es delgado, entre 12-15 μm , con nódulos basales pequeños. El poro excretor está por delante del bulbo medio, con frecuencia cercano a la base del estilete. Los ovarios son dos, prodélficos, convolutos. Las glándulas rectales son seis, de tamaño grande, y segregan una sustancia gelatinosa en la cual se depositan los huevos, que no son retenidos dentro del cuerpo de la hembra.

El macho es vermiforme, de hasta 2 mm de longitud, con el extremo de la región posterior curvado. La cutícula es fuertemente estriada, con campos laterales con cuatro estrías longitudinales. La región labial es redondeada, poco prominente, con un disco labial marcado y pocas estrías (una a tres). Los sectores laterales son más anchos que los submedianos, asemejándose a “mejillas”. El estilete es robusto (18-25 μm) con nódulos basales grandes. Las glándulas esofágicas están situadas principalmente en posición ventral. Las espículas son delgadas, generalmente entre 25-33 μm de longitud, con el *gubernaculum* entre 7-11 μm de longitud. Tiene un testículo, o dos si hubo un desarrollo sexual revertido. La región posterior es redondeada, con fasmidios como poros cerca de la abertura cloacal, que es subterminal. No presentan bursa.

Los juveniles presentan diferente aspecto según el estadio. El J_1 tiene el término de la región posterior roma, realizando la muda dentro del huevo. El J_2 es vermiforme, posee capacidad migratoria, siendo el estado infectivo. La segunda y tercera muda se realiza dentro de la cutícula del J_2 . El cuerpo es recto a arqueado en reposo, midiendo por lo general menos de 0,6 mm de longitud. La región anterior es generalmente redondeada con uno a cuatro estrías gruesas, un disco labial diferenciado y una estructura levemente esclerotizada. Los sectores laterales son más anchos que los submedianos. El estilete es delgado, de menos de 20 μm de longitud. El poro excretor está por detrás del hemizónido. La región posterior tiene una porción hialina claramente visible, con la punta angosta e irregular en el contorno. El J_3 es sedentario, hinchado, con forma de “salchicha” y una región posterior corta y roma. El J_4 también es sedentario e hinchado, con el ano terminal.

1.3.1.2. Biología. El ciclo biológico de los nematodos del género *Meloidogyne* (Fig. 1.3) comienza en el huevo, donde aparece la primera de las cuatro fases juveniles (J_1). Dentro del huevo tiene lugar la primera muda, emergiendo como segundo estadio juvenil (J_2), el cual posee capacidad migratoria y puede penetrar en los tejidos de la planta (*fase infectiva*). **El estado J_2 tiene energía suficiente para permanecer al menos un mes en la búsqueda y penetración de la raíz, estableciendo un sitio de alimentación.** Al penetrar en la raíz se mueve intercelularmente, ingresando a la altura de la base del cilindro vascular y migrando hacia arriba. En la zona de diferenciación de la misma se vuelve sedentario y establece un punto de alimentación permanente. Este punto de alimentación se forma en respuesta a las secreciones que el nematodo inyecta a las células del hospedante, las cuales inducen varias divisiones nucleares sin citoquinesis, dando lugar a células grandes, multinucleadas, llamadas “células gigantes”. Las células de la planta alrededor del lugar de alimentación se dividen e hinchan, lo cual se manifiesta externamente como nódulos (“agallas”). El nematodo ingiere el

citoplasma de las células gigantes derivadas de la planta a través de sus estiletes, ya que estas células gigantes funcionan como fosas metabólicas que canalizan los recursos de la planta hacia el nematodo parásito. Posteriormente pasa por las dos fases juveniles restantes (J_3 y J_4) hasta convertirse en adulto. Tanto el estadio J_2 como el adulto poseen un estilete, mientras que los estadios J_3 y J_4 pueden carecer de él (ORTON WILLIAMS 1973, WILLIAMSON & GLEASON 2003).

1.3.1.3. Especies de interés. Las especies más frecuentes en España son las siguientes:

- *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949
- *M. hapla* Chitwood, 1949
- *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949
- *M. javanica* (Treud, 1885) Chitwood, 1949

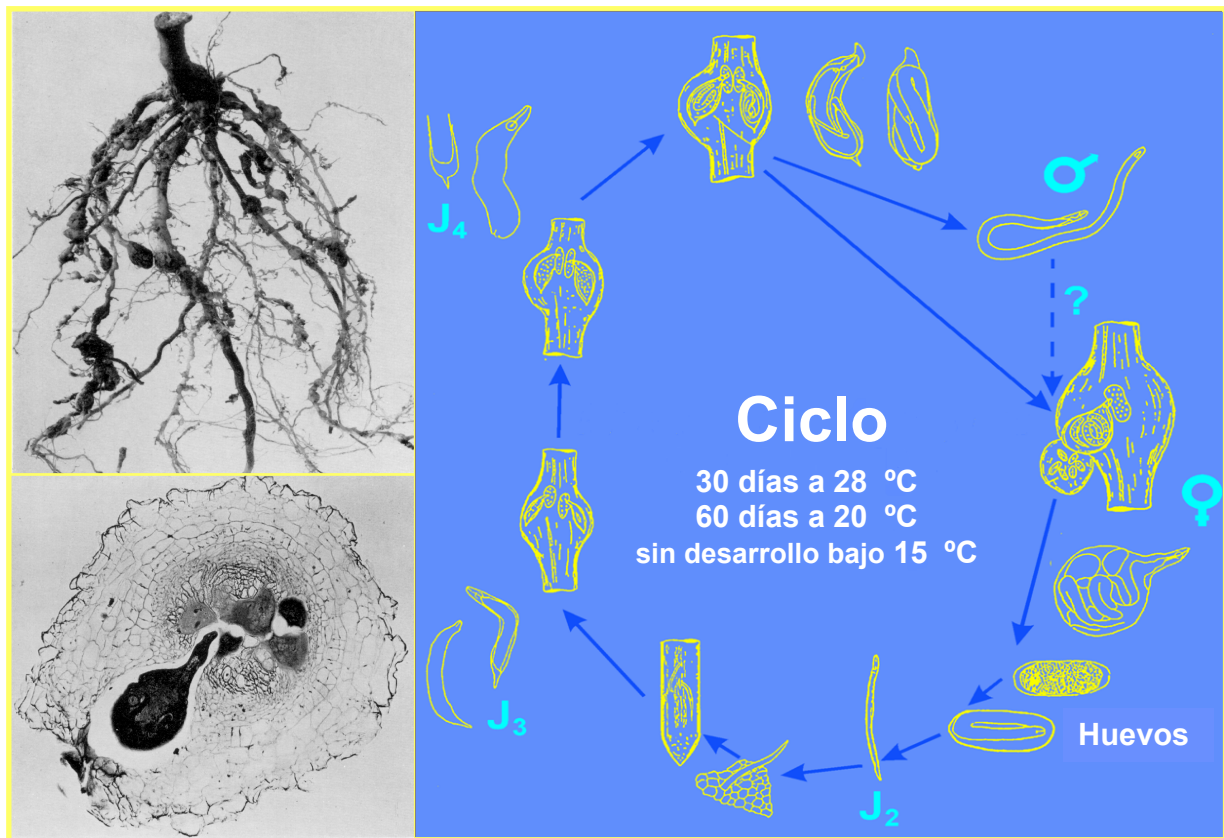


Figura 1.3. Ciclo biológico de *Meloidogyne incognita* (López-Pérez et al. 2003c)

En DÍEZ-ROJO (2010) se describen con mayor detalle las características morfológicas y biológicas de *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica*, así como su distribución tanto mundial como en la Península Ibérica, sus hospedantes más importantes, la relación con otros patógenos y las posibles alternativas de manejo.

1.3.1.4. Relación *Meloidogyne*-hospedante. Los nematodos del género *Meloidogyne* están altamente adaptados al parasitismo radicular, dependiendo del establecimiento de los puntos de alimentación especializados dentro de la raíz para su crecimiento y reproducción. Una vez establecidos, los nematodos tienen un suministro constante de agua y alimento desde el hospedante, así como con la protección dentro del nódulo para la hembra y su progenie (SIDDIQI 2000). Su alta adaptación se traduce en su capacidad de infectar más de 3.000 especies de plantas, incluyendo hortalizas, frutales, cereales y ornamentales (ABAD *et al.* 2003). Una vez que los nematodos endoparásitos entran en la planta, inducen la formación de un punto para su alimentación. Una vez inducido dicho punto, el nematodo depende completamente de éste para su crecimiento y desarrollo. Si el punto de alimentación se vuelve no funcional, el nematodo por el cual se indujo la formación de la estructura para su alimentación morirá. Esta estrategia permite a los nematodos endoparásitos parasitar un amplio abanico de especies vegetales, aspecto importante en agricultura que conviene conocer mejor, para un control alternativo de los nematodos más persistentes (GOVERSE *et al.* 2000). Por otro lado, HUSSEY (1989) y FAVERY *et al.* (1998) han señalado la interacción directa o indirecta de las secreciones glandulares de los nematodos endoparásitos sedentarios en las células vegetales, con el genoma nuclear vegetal, tema que todavía no se conoce completamente. HUSSEY *et al.* (2002) han destacado la importancia de conocer el perfil completo de los productos secretados por el estilete durante el ciclo parasitario, como elemento clave para comprender su base molecular.

Identificación de la virulencia. La identificación de las especies del género *Meloidogyne* se realiza habitualmente mediante estudios taxonómicos, a través de los patrones perineales de las hembras maduras, de la morfología y morfometría de los juveniles, y también mediante el uso de técnicas de biología molecular. Por otra parte, existen los llamados “bioensayos” o “ensayos con hospedantes diferenciales”, que estudian la capacidad de desarrollo del nematodo sobre ciertas plantas hospedantes. La prueba con hospedantes diferenciales más utilizada es el “test de hospedantes diferenciales de Carolina del Norte” diseñado por HARTMAN & SASSER (1985) en la que se incluyen plantas de algodón cv “Deltapine 61”, tabaco cv “North Carolina 95”, pimiento cv “Early California Wonder”; sandía cv “Charleston Gray”, cacahuete cv “Florunner” y tomate cv “Rutgers” (Tabla 1.4).

Mediante el bioensayo diseñado por HARTMAN & SASSER (1985) es posible separar las cuatro razas conocidas de *M. incognita* y las dos razas de *M. arenaria*, así como también distinguir estas especies de *M. javanica* & *M. hapla*. Las razas se han definido al encontrar variaciones

en el comportamiento de distintas poblaciones de una misma especie frente a una gama dada de plantas hospederas.

Algunos investigadores han intentado encontrar diferencias morfológicas entre nematodos de distintas razas para su identificación. EISENBACK (1993) estudió la morfología de hembras, machos y juveniles de 11 poblaciones de *M. hapla* pertenecientes a las dos razas citológicas (A y B). Realizó sus observaciones por microscopía óptica y electrónica, señalando que el estilete de los machos de la raza B presenta una forma cilíndrica, mientras que en la raza A su anchura se incrementa gradualmente. Sin embargo, OSMAN *et al.* (1985) y RAMMAH & HIRSCHMANN (1993), al estudiar las razas de *M. arenaria*, señalan que no es posible diferenciar entre las razas 1 y 2 por morfología. Por su parte, LÓPEZ (1996) considera que la utilización de la morfometría y los patrones enzimáticos no es eficaz para separar las razas de *M. incognita*.

Tabla 1.4. Test de hospedantes diferenciales de Carolina del Norte para distinguir las razas dentro de las especies más comunes del género *Meloidogyne*.

| | Pimiento | Tomate | Algodón | Tabaco | Cacahuete | Sandía |
|---------------------|----------|--------|---------|--------|-----------|--------|
| <i>M. incognita</i> | | | | | | |
| Raza 1 | + | + | - | - | - | + |
| Raza 2 | + | + | - | + | - | + |
| Raza 3 | + | + | + | - | - | + |
| Raza 4 | + | + | + | + | - | + |
| <i>M. arenaria</i> | | | | | | |
| Raza 1 | + | + | - | + | + | + |
| Raza 2 | - | + | - | + | - | + |
| <i>M. javanica</i> | | | | | | |
| | - | + | - | + | - | + |
| <i>M. hapla</i> | | | | | | |
| | + | + | - | + | + | - |

- hospedante resistente; + hospedante susceptible

Otros investigadores han realizado estudios bioquímicos y moleculares, los cuales en los últimos años han experimentado un desarrollo que permite su utilización para confirmar la identificación morfológica de las especies más importantes y frecuentes. Así, CENIS *et al.* (1992) determinaron las variaciones del ADN en 19 poblaciones de *Meloidogyne* procedentes de varias plantas hospederas y diferentes regiones españolas, señalando que los estudios enzimáticos y de ácidos nucleicos sólo permitieron separar especies. Posteriormente, CENIS (1993) señaló que las dos razas de *M. hapla* se pueden separar por biología molecular, así como algunas poblaciones de *M. arenaria*, pero no ocurre lo mismo con las cuatro

razas de *M. incognita*. Algunos autores coinciden al señalar que no se puede aplicar la amplificación de ADN o la electroforesis para separar las razas de *M. incognita* o de *M. arenaria* (CHACÓN *et al.* 1994, CARNEIRO *et al.* 1996, SUCHITRA AHLAWAT & GANGULY 1999). Sin embargo, FARGETTE (1987) señala la existencia de una raza B de *M. incognita* capaz de parasitar a las variedades de tomate resistente y que puede diferenciarse por electroforesis. Por otro lado, BEEK *et al.* (1997) concluyeron que las técnicas moleculares permiten diferenciar a las razas A y B de *M. hapla*, del mismo modo lo hace YU *et al.* (1998) utilizando RAPD.

Algunos investigadores han señalado que las diferencias en virulencia y patogenicidad dentro de una misma especie no sólo definen razas, sino biotipos dentro de una misma raza. Los conceptos de biotipo, patotipo y raza han sido objeto de discusión en forma reiterada. STURHAN (1985) definía a la raza como un concepto basado en caracteres morfológicos de población y al patotipo o biotipo como un fenotipo de virulencia. Pero la revisión de DROPKIN (1988) acerca del tema conduce a la recomendación de que los términos biotipo, raza y línea se refieran a patotipo, puesto que son poblaciones que están definidas por un huésped diferencial. Sin embargo, puesto que en este trabajo nos interesa la variación en virulencia del nematodo frente a un hospedante cuando posee genes de virulencia, nos referiremos a **tipo de virulencia** o **biotipo** para no crear confusión con los patotipos que son capaces de parasitar a los hospedantes sin genes de resistencia.

Teniendo en cuenta la complejidad y dificultades para la identificación de la virulencia utilizando métodos moleculares y la ausencia de diferencias morfológicas entre las poblaciones virulentas y avirulentas de una misma especie, se hace necesario encontrar un método que permita identificar la virulencia de las poblaciones de *Meloidogyne*. Actualmente la técnica de bioensayos con huéspedes diferenciales está en desuso debido a las diferentes respuestas de las plantas frente a poblaciones de una misma especie, y al hecho de que muchas poblaciones están compuestas por mezcla de distintas especies (ROBERTSON *et al.* 2009). Ante estas dificultades nuestro equipo del antiguo Dpto de Agroecología del Centro de Ciencias Medioambientales (CSIC) ha diseñado un bioensayo de hospedantes diferenciales tomando como base el de Carolina del Norte (HARTMAN & SASSER 1985), el cual permite distinguir a las poblaciones virulentas de las avirulentas para los cultivos de tomate y pimiento. Para ello, **han introducido los cultivares de tomate “Nikita” y “Euphrates” portadores del gen *Mi* y el cultivar de pimiento Atlante, frente a 250 poblaciones de nematodos del género *Meloidogyne* recolectadas en las zonas más representativas de la horticultura española.** Los resultados se recogen en PIEDRA BUENA (2004), ROBERTSON *et al.* (2006, 2009), TORRES *et al.* (2007) y se exponen en la Tabla 1.5.

Tabla 1.5. Razas y biotipos de *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* (TAYLOR & SASSER 1978, modificada por ROBERTSON *et al.* 2006, 2009, 2010 & TORRES *et al.* 2007).

| Razas y Biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽¹⁾ | | Algodón cv Deltapine 91 | Tabaco cv NC 95 | Cacahuete cv Florunner |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------|-----------------------|---------------|-------------------------|-----------------|------------------------|
| | Sonar (S) | Atlante (R) | Marmande (S) | Euphrates (R) | | | |
| <i>M. arenaria</i> | | | | | | | |
| 1 Tomate ⁽²⁾ | + | ? | + | ? | - | + | + |
| 2 Tomate ⁽²⁾ | - | + | + | ? | - | + | - |
| 2 Tomate <i>Mi</i> | - | + | + | + | - | + | - |
| 3 Tomate ⁽²⁾ | + | - | + | ? | - | + | - |
| 3 Tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - |
| 3 Pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - |
| <i>M. hapla</i> ⁽³⁾ | | | | | | | |
| 1 Pimiento A <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - |
| 1 Pimiento B <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | -/+ |
| <i>M. incognita</i> | | | | | | | |
| 1 Tomate | + | - | + | - | - | - | - |
| 1 Tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | - | - |
| 1 Pimiento | + | + | + | - | - | - | - |
| 1 Pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | - | - |
| 2 Tomate | + | - | + | - | - | + | - |
| 2 Tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - |
| 2 Pimiento | + | + | + | - | - | + | - |
| 2 Pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - |
| 3 Tomate | + | - | + | - | + | - | - |
| 3 Tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | + | - | - |
| 3 Pimiento | + | + | + | - | + | - | - |
| 3 Pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | - | - |
| 4 Tomate | + | - | + | - | + | + | - |
| 4 Tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | + | + | - |
| 4 Pimiento ⁽²⁾ | + | + | + | - | + | + | - |
| 4 Pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | + | - |
| 5 Tomate ⁽²⁾ | - | - | + | - | - | - | - |
| 5 Tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | - | - |
| 6 Tomate ⁽²⁾ | - | - | + | - | - | + | - |
| 6 Tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + | - |
| 7 Tomate ⁽²⁾ | - | - | + | + | + | + | - |
| 7 Tomate <i>Mi</i> ⁽²⁾⁽⁴⁾ | - | - | + | + | + | + | - |
| <i>M. javanica</i> | | | | | | | |
| 1 Tomate ⁽²⁾ | - | - | + | ? | - | + | - |
| 1 Tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + | - |
| 2 ¿Pimiento? ⁽²⁾ | + | + | + | ? | - | + | - |
| 3 ¿Tomate? ⁽²⁾ | - | - | + | ? | - | + | - |
| 4 ¿Pimiento? ⁽²⁾ | + | - | + | ? | - | + | - |
| 5 Tomate <i>Mi</i> ⁽⁵⁾ | - | - | + | + | - | + | - |

⁽¹⁾ R: resistente, S: susceptible; ⁽²⁾ no encontrado en España y deberían confirmarse, ⁽³⁾ *Tagetes patula* separa razas A & B, ⁽⁴⁾ determinada como 6 en TORRES *et al.* (2007), pero al estudiar la información la consideramos 7; ⁽⁵⁾ descrita por ROBERTSON *et al.* (2009).

1.3.2. Nematodos asociados al viñedo

Todas las especies de nematodos asociadas al viñedo son edáficas y se alimentan de sus raíces; el efecto que producen es, en muchos casos, de muy difícil evaluación debido, por un lado, a su asociación con otros organismos patógenos y, por otro al hecho de que los síntomas que producen son en general inespecíficos, como falta de vigor, bajo rendimiento, decoloraciones y poca resistencia a la sequía, que pueden confundirse con estrés hídrico o deficiencias nutricionales, que en viñedos establecidos pueden solucionarse total o parcialmente mediante riego y abonado. La aparición de esta sintomatología en rodales dentro del cultivo permite sospechar que está causada por nematodos.

La nematofauna asociada al viñedo está representada por unas 300 especies, pertenecientes a 72 géneros, con especies fitoparásitas, saprófagas o depredadoras. Entre ellas, se han citado 37 especies parásitas de la vid, siendo los nematodos de mayor repercusión en el viñedo los ectoparásitos migratorios vectores de virus de la familia Longidoridae (ARIAS & NAVACERRADA 1973, 1976, ARIAS 1979, 1996), aunque los más importantes por su acción directa sobre el cultivo son los endoparásitos sedentarios del género *Meloidogyne*, endoparásitos migratorios del género *Pratylenchus*, semiendoparásitos como *Tylenchulus semipenetrans* que origina problemas graves principalmente en los viñedos de Australia, ectoparásitos sedentarios como *Macroposthonia xenoplax* que produce clorosis y otras alteraciones en viñedos de California y, de menor importancia *Gracilacus peratica* y algunas especies de *Paratylenchus*, los ectoparásitos migratorios de los géneros *Helicotylenchus*, *Rotylenchus* y *Tylenchorhynchus s.l.* aparecen frecuentemente asociados al cultivo, pero se conoce poco de su posible patogenicidad (LAMBERTI 1989, BROWN *et al.* 1993). En este apartado nos centraremos principalmente en el estudio de los transmisores de virus, y en especial de *X. index*.

1.3.2.1. Nematodos transmisores de virus del género *Xiphinema*. Los nematodos ectoparásitos vectores de virus pertenecientes al género *Xiphinema* son los patógenos principales de los viñedos españoles, destacando sobre todo *X. index* por ser vector del GFLV, o “virus del entrenudo corto de la vid”, que se encuentra distribuido por todo el país con una incidencia en torno al 12% (± 0.025), y que se puede transmitir, además, a través del material vegetal infectado como estaquillas e injertos (ARIAS *et al.* 1997, FRESNO *et al.* 2001). *X. italiae* también ha sido comprobado experimentalmente como vector del GFLV (COHN *et al.* 1970) aunque en campo no es efectivo (MARTELLI 1978).

Las principales especies del género *Xiphinema* asociadas al viñedo son las siguientes:

- *X. diversicaudatum* (Micoletzky, 1927) Thorne, 1939
- *X. index* Thorne & Allen, 1950
- *X. italiae* Meyl, 1953
- *X. pachtaicum* (Tulaganov, 1938) Kirjanova, 1951

***Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950.** *X. index* es el vector más importante del GFLV, y presenta una distribución que es similar a la del viñedo. Tiene una gama restringida de hospedadores (vid, higuera, rosál y morera), aunque COIRO *et al.* (1990a,b) han comprobado experimentalmente que parasita a otros cultivos y malas hierbas que pueden servir de reservorio de las poblaciones. Independientemente de su función de vector de virus también produce un daño directo sobre las plantas, puesto que induce una serie de alteraciones en las raíces como consecuencia de su actividad trófica, que consisten en engrosamientos y necrosis de los extremos apicales de las raicillas secundarias, con alteraciones celulares (LEHMANN & WYSS 1978). En DÍEZ-ROJO (2010) se realiza una descripción más completa de la especie *X. index*.

Características morfológicas. Según la descripción de SIDIQI (1986) la hembra presenta el cuerpo alargado cilíndrico, de unos 3 mm de longitud, formando una espiral abierta con mayor curvatura en la mitad posterior. La región labial es hemisférica, y el estilete es típico del género, consta de un odontostilo hueco, bifurcado en el punto de unión con el odontóforo, con tres extensiones basales y anillo guía. La vulva es un corte transversal en la parte media del cuerpo, mientras que las gónadas son didélficas, retroflexas y no presentan órgano “Z” ni pseudórgano “Z”, a diferencia de *X. diversicaudatum*. Los ovarios son didélficos y alargados y la región posterior es mamiforme, convexo-cónica con mayor curvatura en su parte dorsal y un mucrón en la parte ventral entre 9-13 μm de longitud, aunque pueden aparecer hembras amugronadas. Los machos son extremadamente raros, semejantes a la hembra, no siendo necesarios para la reproducción, puesto que lo pueden hacer por partenogénesis. Los juveniles también son similares a los adultos, distinguiéndose de ellos por poseer dos onquiostilos. Algunos juveniles de primer estadio (J_1) muestran una forma característica de la región posterior que tiene valor taxonómico, la parte anterior del odontostilo de repuesto se sitúa en la parte del odontóforo del estilete funcional, mientras que los restantes estadios juveniles (J_2 , J_3 y J_4) tienen el odontostilo de repuesto en posición posterior incluido en la pared de la parte anterior del esófago.

Biología. Su ciclo biológico consta de cuatro estadios juveniles, cada uno separado del otro por una muda y de un estadio adulto. La reproducción de *X. index* es partenogenética por lo que un solo juvenil es capaz de desarrollar una población (DALMASSO 1970). Por lo general los huevos eclosionan en primavera pasando por los cuatro estadios juveniles. En campo el ciclo biológico puede durar más de 14 meses en campo debido a que las temperaturas varían y al desarrollo estacional de la planta huésped (ANTONIOU 1989). En estudios de campo es difícil determinar la duración del ciclo, puesto que en la mayoría de las especies de *Xiphinema* pueden encontrarse a lo largo del año tanto adultos como todos los estados juveniles (FLEGG 1966, 1968, HARRIS 1979, RÜDEL 1986, DEMANGEAT *et al.* 1995).

Daño directo. Los nematodos ectoparásitos migratorios de los géneros *Longidorus* y *Xiphinema* inducen modificaciones en las raíces de las plantas, al alimentarse sobre las células subapicales de las raíces, produciendo al alimentarse necrosis y pequeños nódulos en la zona apical de las raíces de la vid, llegando a reducir hasta el 38% de su peso (FISHER & RASKI 1967). Estos nematodos introducen su estilete a través de una serie de 5 a 7 células corticales. Las células próximas a donde se introduce el odontostilo se hipertrofian y muestran síntomas de gran actividad metabólica, de manera similar a la que se observa en los sincitios producidos por *Heterodera* y *Meloidogyne*, produciendo un incremento de inclusiones citoplasmáticas y aumento del tamaño de núcleos y nucleolos. Los nematodos causan engrosamiento y detención del ciclo de crecimiento del sistema radicular, de modo que las plantas quedan incapacitadas para la absorción de nutrientes y comienzan a mostrar síntomas de deficiencia de elementos como nitrógeno, sodio, potasio, fósforo y magnesio (MAUNG 1959, WINFIELD & COOKE 1975).

Distribución y hospedantes. *X. index* está ampliamente distribuido en todos los viñedos del mundo, puesto que se encuentra principalmente asociado a la vid, también se ha encontrado frecuentemente asociado a higuera, rosal, morera y otros frutales, siendo poco frecuente en plantas herbáceas y en ambientes naturales, aunque se ha citado en bosques de Irán (CHOLEVA 1975, WEISCHER 1975, SIDDIQI 1986). En España se ha encontrado fundamentalmente en viña e higuera apareciendo ocasionalmente en áreas naturales en las regiones del Sur, Este y Centro de la Península (ARIAS 1975). Los rangos de hospedadores y su patogenicidad han sido estudiados por RADEWALD & RASKI (1962).

El suelo no es un factor limitante para la distribución del nematodo, aunque las variaciones poblacionales son más patentes en los suelos ligeros que en los arcillosos, siendo más abundantes en suelos con pH entre 6,5-7,5, disminuyendo las poblaciones a pH inferior a 6,5 (COHN & MORDECHANI 1970, PROTA 1970, WEISCHER 1974). Sin embargo, NAVAS & ARIAS

(1986) lo encuentran en todo tipo de suelos, desde arenosos a arcillosos, pero con mayor frecuencia en las clases texturales franco-arenosas y franco-arcillo-arenosa, con márgenes de pH comprendidos entre 7,4–8,2 y contenidos de materia orgánica comprendidos entre 2,5–5,5%. En suelos de buena permeabilidad *X. index* se encuentra principalmente a profundidades entre 30-50 cm, que corresponden a la zona de máxima densidad de raíces (WEISCHER 1975, SCOTTO LA MASSESE *et al.* 1988, ARIAS *et al.* 1997), pero puede sobrevivir a profundidades de hasta 3,5 m en ausencia de raíces y a 2 m es frecuente encontrar nematodos portadores del virus (RASKI *et al.* 1965).

También soporta contenidos altos de carbonato, hasta más del 54%, sus poblaciones aumentan con el contenido de arena, encontrándose las poblaciones máximas en suelos con porcentajes de arena entre el 59-70%, disminuyendo según aumenta el contenido en carbonato. Por otro lado, en relación con el suelo en La Mancha se ha encontrado en suelos de Cambisol gleico y cálcico, apareciendo una vez en un Luvisol, pero nunca en Solochaks ni Vertisoles (ARIAS *et al.* 1997).

Otras especies del género *Xiphinema*

X. diversicaudatum está distribuido en zonas de clima templado y húmedo de todo el mundo, es vector del virus del mosaico del Arabis (ArMV) (JHA & POSNETTE 1959) y del virus de los anillos latentes de la fresa (SLRSV) (LISTER 1964). Es una especie muy frecuente en la parte septentrional de Francia, a lo largo de las cuencas fluviales y en la costa atlántica encontrándose muy dispersa en el Reino Unido y Centro Europa (ALPHEY & TAYLOR 1986). Se ha encontrado asociado a vegetación natural en suelos con unos 60-70% de arena, preferentemente ácidos, condicionado por la humedad y el clima continental (subhúmedo a húmedo), su límite sur en Europa parece estar en la Región Central de España (ARIAS *et al.* 1985). Otras asociaciones que han sido citadas entre nematodos y virus se consideran dudosas por no cumplir sus pruebas de transmisión los requisitos establecidos por TRUDGILL *et al.* (1983).

X. italiae es una especie que está distribuida ampliamente en Europa, especialmente en el área del litoral mediterráneo (COHN 1977, ALPHEY & TAYLOR 1986), donde aparece en viñedos asociada a *X. index* y *X. pachtaicum*. Se ha citado en Sudáfrica y Nigeria asociada a GFLV (HEYNS 1974, KHAN 1988). Su rango de hospedadores es amplio, generalmente en plantas cultivadas, aunque también es frecuente en bosques (HEYNS, 1974, LAMBERTI *et al.* 1985), pero solamente se ha comprobado su desarrollo en vid y cítricos (COHN & MORDECHANI 1969, COIRO & AGOSTELLI 1991). NAVAS & ARIAS (1986) lo encuentran asociado a suelos

areno-limosos y limo-arenosos con pH ácido (5-5,5) y contenidos de materia orgánica entre 2,5-5,5%. *X. italiae* también ha sido comprobado experimentalmente como transmisor de GFLV (COHN *et al.* 1970), aunque en condiciones de campo no es muy efectivo (MARTELLI 1978).

X. rivesi se encuentra ampliamente distribuido en EE UU y Canadá (EBSARY *et al.* 1984, GEORGI 1988, GRIESBACH & MAGGENTI 1990), así como en los viñedos Bourdelais (Francia) (SCOTTO LA MASSESE *et al.* 1988). En España se encuentra en áreas naturales, asociado a diferentes cultivos, especialmente vid y rosál al que parasita (ARIAS *et al.* 1991). Es el principal vector del TRSV (FORER *et al.* 1981, FORER & STOUFFER 1982), virus que no se ha encontrado en España.

X. pachtaicum pertenece al grupo *X. americanum s. l.*, se le conocía como *X. mediterraneum* hasta que LAMBERTI & SIDDIQI (1977) sinonimizaron ambas especies, se encuentra distribuido ampliamente en la cuenca mediterránea, frecuentemente asociado a viñedo (ALPHEY & TAYLOR 1986, ARIAS *et al.* 1986), ha sido citado como posible vector del GFLV (ALFARO 1971).

1.3.2.2. Virus causante del entrenudo corto infeccioso de la vid (GFLV). Conocido como “*Grapevine Fanleaf Virus*” (GFLV), es el virus que primero se encontró en el viñedo, causa “la degeneración infecciosa de la vid” y constituye el mayor problema en todas las zonas vitivinícolas del mundo. Se considera que la enfermedad existe en la cuenca mediterránea desde la implantación de la viticultura (HEWITT 1956) y fue aislado por CADMAN *et al.* (1960). El efecto de la enfermedad varía con la tolerancia del cultivo y las características ambientales, en condiciones extremas de suelos poco profundos, climas cálidos y soleados pueden llegar a producir la muerte de las vides. Sin embargo, en otras condiciones las plantas afectadas pueden sobrevivir mucho tiempo con mayor o menor productividad y su reducción depende en cierto grado del clima, suelo, variedades, patrones, etc. Las pérdidas medias estimadas en países europeos para variedades susceptibles de *Vitis vinífera* llegan al 50% de reducción de peso, con depreciación comercial de la uva de mesa. Además los plantones e injertos de plantas enfermas tienen crecimiento débil, escasa capacidad de enrizamiento y dificultad para prender el injerto (VUITTENEZ 1970).

Características generales del GFLV. El virus de la degeneración infecciosa de la vid es un Nepovirus formado por partículas isométricas de unos 30 nm de diámetro con contorno angular y poca resolución de superficie de estructura. Al purificar el virus y someterlo a centrifugación diferencial en gradiente de sacarosa, se separan tres bandas correspondientes a

tres tipos de partículas denominadas, en función de su coeficiente de sedimentación: T (*Top*, banda superior), M (*Middle*, banda media) y B (*Bottom*, banda inferior), de 53, 93 y 126 S respectivamente. El diagnóstico serológico puede hacerse por tests convencionales como ELISA, inmuno-electromicroscopía o por técnicas de ácidos nucleicos.

Transmisión del virus GFLV. Es no circulativo y semipersistente (TAYLOR & BROWN 1997, BROWN & WEISCHER 1998, MC FARLANE 2003). En condiciones de campo el GFLV solamente se ha encontrado en vid (MARTELLI 1978) pero experimentalmente tiene una gama de hospedadores amplia, que comprende unas 30 familias botánicas diferentes. Se ha demostrado que es suficiente que el nematodo se alimente una sola vez en una planta infectada por un período de cinco minutos para adquirir el virus (ALFARO & GOHEEN 1974), aunque la alimentación por períodos más largos favorece la eficacia de la transmisión.

Sintomatología. Los síntomas que se le atribuyen son tan variados que dan lugar a cierta confusión, actualmente se considera que síntomas similares son el resultado de la fisiología de la planta y de condiciones genéticas y ambientales (WALTER *et al.* 1983). Según MARTELLI & SAVINO (1988) la enfermedad se caracteriza por tres tipos de síntomas producidos por distintas reacciones del agente causal:

1. Malformaciones infecciosas. Hojas distorsionadas, asimétricas, con denticiones agudas, manchas cloróticas, deformaciones foliares y brotes mal formados con ramificaciones anormales; nudos dobles, entrenudos cortos, racimos pequeños, pobres y en menor número de lo normal, maduración irregular con uvas pequeñas. Los síntomas foliares se desarrollan al principio de la primavera y persisten a lo largo de todo el período vegetativo, aunque pueden enmascarse en verano.

2. Mosaico amarillo. Desarrollo de decoloraciones, amarillo brillante al principio de la primavera, que pueden afectar a todas las partes vegetativas de la cepa (hojas, ramas, pámpanos e inflorescencias).

3. Alteraciones cromáticas. Las hojas varían de pocas manchas salteadas, anillos, líneas, extenso moteado de las venas y/o áreas intervenales, a un amarillo total, en primavera las partes afectadas se distinguen fácilmente a distancia. El follaje y las ramas muestran pocas o ninguna malformación, pero los racimos son pequeños con uvas que no maduran y de coloración débil en las variedades tintas. En climas cálidos, la vegetación en verano presenta su color verde normal y el amarillo se torna blanquecino tendiendo a desaparecer.

4. Bandedo de venas. Se caracteriza por el amarilleo de las venas principales de hojas maduras que se extiende a las áreas intervenales y desaparece a mediados o final de verano, generalmente en un número limitado de hojas. Las hojas cloróticas muestran una ligera malformación. Racimos pobres y producción virtualmente nula (GOHEEN & HEWITT 1962).

Mecanismos de transmisión del GFLV. En condiciones de campo el GFLV solamente se ha encontrado en vid (MARTELLI 1978), pero experimentalmente tiene una gama amplia de hospedadores, que comprende unas 30 familias botánicas. Se transmite fácilmente a plantas herbáceas por inoculación de savia, de vid a vid a través de material vegetal infectado y, de acuerdo con su naturaleza de Nepovirus, por los nematodos vectores *X. index* y *X. italiae* (HEWITT *et al.* 1958, COHN *et al.* 1970). Es suficiente que el nematodo se alimente una sola vez en una planta infectada por un período de cinco minutos para adquirir el virus (ALFARO & GOHEEN 1974), aunque períodos superiores favorecen la eficacia de la transmisión.

Identificación del GFLV. La técnica ELISA (*Enzyme-Linked-Immunesorbent Assay*) se viene utilizando en la detección de GFLV en vid (GONSALVES 1979, RAMSDELL *et al.* 1979, BOVEY 1980, ENGLEBRECHT 1980, JIMÉNEZ & GOHEEN 1980, TANNE 1980, CLARK 1981, SHANMUGANATHAN & FLETCHER 1982). En la actualidad se están empleando otras técnicas de gran sensibilidad en el diagnóstico de virus, la reacción de la polimerasa en cadena, *Polimerase Chain Reaction* o PCR (SAIKI *et al.* 1988), es 10^7 veces más sensible que el Dot-Blot (BORJA & PONZ 1992). El método de inmunocaptura-reacción de la polimerasa en cadena (IC/PCR) (NOLASCO *et al.* 1992) que combina el PCR con la técnica ELISA, con la ventaja de ser más operativo que el primero y más sensible que el segundo, se ha experimentado con resultados satisfactorios para la detección del virus en planta a grandes diluciones y en un solo nematodo.

Se ha venido considerando que la facilidad de detección del virus dependía de la época del año, siendo más alta en junio y menor en diciembre y marzo (BOVEY *et al.* 1980, NOLASCO 1982, RÜDEL *et al.* 1983); sin embargo, FRESNO & ARIAS (1993) señalan que el virus se puede detectar en diferentes partes de la planta a lo largo de todo el año, así como en los nematodos vectores.

1.4. NEMATODOS FITOPARÁSITOS Y ALTERNATIVAS DE MANEJO

El manejo de los nematodos fitoparásitos, plantea ciertas dificultades que han sido analizadas por BELLO (1983), **quien señala en primer lugar el hecho de que los nematodos parásitos de plantas, especialmente los que se encuentran en el suelo no son visibles con facilidad.**

Un problema importante en el estudio de los organismos del suelo es que la muestra seleccionada pueda ser representativa del cultivo y problema que se pretende estudiar, por ello los muestreos deben planificarse teniendo en cuenta las características biológicas y ecológicas de los nematodos fitoparásitos, que permitan una valoración de la población que tenga un nivel aceptable de precisión. Uno de los factores más importantes a tener en cuenta en la planificación de un muestreo es el modelo de distribución espacio-temporal que presentan los nematodos. Aunque teóricamente los nematodos pueden presentar una distribución regular, al azar o en agregados, la distribución espacial característica de los nematodos fitoparásitos es de tipo agregado o contagiosa, como consecuencia de las pautas de micro y macro distribución relacionadas con la biología y fuente de alimento. El análisis nematológico, las determinaciones con base a la morfología del aparato digestivo, el estudio preciso de la morfometría, biología y biotecnología, las características de la planta hospedadora, el estudio de la distribución espacial y temporal de los nematodos teniendo en cuenta además el estado fenológico del cultivo y la estación del año en la que se realiza el muestreo, así como sus fluctuaciones, deben ser labor de expertos. **Los nematodos del suelo se encuentran en ocasiones distribuidos por focos y la localización de los mismos, así como su caracterización, no es siempre fácil, por lo que incluso las fases previas de muestreo podrían inducir a errores, si no son realizadas por expertos y de conformidad con protocolos de muestreo adecuados al área espacial a estudiar, teniendo muy en cuenta las características del cultivo y la época del año.**

La distribución temporal y las fluctuaciones estacionales de las poblaciones de nematodos parásitos de plantas están determinadas por la biología, ciclo de vida y dinámica de población de las especies objeto de estudio, así como por las relaciones huésped-parásito y las interacciones con el medio ambiente. El conocimiento básico de la biología de estos organismos es imprescindible para poder considerar los resultados de un muestreo representativo de la población, siendo necesario en ocasiones realizar muestreos en diferentes épocas del año para determinar las fluctuaciones estacionales. El conocimiento de las relaciones huésped-parásito es también fundamental para localizar y estimar correctamente la densidad de población de muchas especies. Así, por ejemplo, las especies de los géneros *Ditylenchus*, *Meloidogyne* y *Pratylenchus* son endoparásitas y pueden pasar inadvertidas en muestras de suelo recogidas durante la primavera-principios de verano, puesto que la mayoría de los individuos están en el interior de los tejidos del tallo o raíces respectivamente.

Además, los síntomas que los nematodos producen en las plantas en las etapas iniciales del parasitismo se pueden confundir con los asociados a otros problemas, por lo que los diagnósticos pueden ser en ocasiones erróneos o difíciles de establecer. Así, por ejemplo, las

plantas afectadas por nematodos fitopatógenos del sistema radicular suelen mostrar en su parte aérea una sintomatología similar a la causada por estados nutricionales carenciales. Dependiendo del tipo de nematodo que parasite la planta, en las raíces se pueden observar síntomas específicos, como la formación de nódulos, en el caso del género *Meloidogyne*; pequeños engrosamientos en los ápices radicales, en el caso de nematodos vectores de virus de los géneros *Xiphinema*, *Longidorus* y *Trichodorus*; pequeños engrosamientos en las raíces secundarias, en el caso de parasitismo por *Tylenchulus semipenetrans*; proliferación excesiva y crecimiento anormal de las raíces secundarias, en el caso de presencia de patógenos de los géneros *Heterodera* y *Meloidogyne*, en este último caso se llegan a formar nódulos o “agallas”; necrosis en el punto de alimentación, con carácter general cuando se trata de nematodos ectoparásitos; y putrefacción, en situaciones de interacciones de nematodos con bacterias u hongos.

Una vez confirmada la identificación correcta de las especies, es necesario el conocimiento del ciclo de vida de estos organismos y su dinámica, densidad de poblaciones, ecología, síntomas, cultivos y flora arvense que parasitan, así como de las alternativas de manejo. Este conocimiento es imprescindible para seleccionar en cada caso las alternativas de prevención sanitarias y manejo, sin afectar a las poblaciones de otros microorganismos beneficiosos o no patógenos para los cultivos. Así por ejemplo, aunque una parte importante de tilénquidos son fitoparásitos, algunas especies se alimentan de hongos o son depredadores. Por el contrario, los doriláimidos no suelen ser fitoparásitos, excepción hecha de los géneros *Longidorus* & *Xiphinema*, que son fundamentalmente transmisores de virus. El buen estado sanitario de las raíces de los cultivos es necesaria para que tengan lugar los procesos fisiológicos de modo normal y los rendimientos de los cultivos sean aceptables (BARRES *et al.* 2006).

Un aspecto fundamental para la correcta utilización de **las alternativas de manejo, está relacionado con la acción de los nematodos sobre las plantas.** Las características biológicas y ecológicas de migratorio o sedentario, así como de ectoparásito o de endoparásito, resultan esenciales para la elección de los métodos de muestreo y manejo más adecuados de los nematodos fitoparásitos en cada caso. Así, los nematodos ectoparásitos y los endoparásitos migratorios en general pueden controlarse con sistemas alternativos al BM y a los tratamientos químicos. Por el contrario, el manejo de los nematodos endoparásitos sedentarios requiere una adecuada armonización de técnicas alternativas, que deben ser contrastadas para cada caso concreto (BARRES *et al.* 2006). Además **se debe de tener en cuenta que existe la posibilidad de la presencia simultánea de diferentes especies en ciertas circunstancias, por lo que conviene conocer las interacciones entre dicho**

conjunto de nematodos, sean ectoparásitos o endoparásitos, migratorios o sedentarios, puesto que puede afectar a la eficacia de la técnica de manejo que se pretende aplicar (NOLING 2000).

1.4.1. Tratamientos con nematicidas o nematostáticos de síntesis

En épocas pasadas los nematicidas de síntesis, fueron la técnica de manejo de estos parásitos en la mayoría de los casos, particularmente cuando la enfermedad se presenta de modo severo. Por otro lado, la mayoría de los nematicidas de síntesis, han sido eliminados o su uso en determinadas áreas geográficas tiene limitaciones para su aplicación, por su impacto sobre la salud de las personas o sobre el ambiente. Diversas fuentes documentales, como AGRINNOVA del Centro de Competencia para la Innovación en el Sector Agroambiental de la Universidad de Turín (Italia), Asociación Australasiática de Nematólogos, EPA de EE UU, Instituto de Nematología Agraria de Bari (Italia), Facultad de Ciencias Agronómicas de Santiago de Chile, Universidad de California y Universidad de Florida coinciden en clasificar los nematicidas de síntesis en dos grandes grupos, los fumigantes y los no fumigantes. Éstos últimos en diversas situaciones han demostrado menor eficacia que los fumigantes, y tienen su actividad nematicida fundamentalmente sobre los estadios activos de los nematodos, pero no sobre huevos, retrasando su eclosión. Estos nematicidas no fumigantes no son tan fitotóxicos como los fumigantes, por lo que en muchas ocasiones sólo se pueden usar en postplantación. El uso de fumigantes para el suelo ha sido el método químico más comúnmente usado, pero la tendencia a la prohibición de los mismos y el precio elevado ha limitado su utilización, cuanto menos en determinados cultivos. El potencial de carcinogenicidad de los productos nematicidas de síntesis, así como su efecto en la contaminación de las aguas, o el impacto de sus emisiones a la atmósfera, han figurado entre las razones presentadas para la revisión por las autorizaciones de registro y de uso de algunos de estos productos, tanto en la UE como en otros países como EE UU (BARRES *et al.* 2006).

1.4.1.1. Fumigantes del suelo. Los fumigantes utilizados y permitidos en la actualidad como nematicidas incluyen las **mezclas de 1,3-D, generadores de isotiocianato de metilo** (metam sodio, metam potasio y dazomet), tetratiocarbonato de sodio que libera disulfuro de carbono y el ioduro de metilo (éste último, no registrado en muchos de los países que aún utilizan BM). En un principio los metam ya sea el sódico o el potásico, así como el dazomet no son fumigantes, pero tras su aplicación en el suelo desprenden metilisotiocianato (BARRES *et al.* 2006).

A continuación se describen los principales fumigantes utilizados para el control de nematodos (LIÑÁN DE 2009):

1,3-D (1,3-dicloropropeno). Se trata de un hidrocarburo clorado con acción fumigante del suelo. Tiene propiedades nematicidas, fungicidas, insecticidas y herbicidas. El producto actúa como esterilizante en contacto con la plaga o enfermedad. El poder nematicida procede de su producto de degradación 3-cloroalil alcohol. También protege a la viña de la "degeneración infecciosa", transmitida por el nematodo *X. index*. No altera el equilibrio dinámico de los microorganismos del suelo a las dosis recomendadas. **La degradación del dicloropropeno en el suelo es rápida**; la velocidad del proceso viene determinada por el tipo suelo. Las pérdidas ocurren por volatilización, degradación por los microorganismos, hidrólisis, absorción irreversible y pérdidas a la atmósfera. En el suelo se hidroliza dando lugar a los correspondientes alcoholes 3-cloroalilos que son también biocidas y que se degradan principalmente por vía biológica. Estos alcoholes quedan fuertemente retenidos en las partículas del suelo. El 1,3-D puede lixiviarse si las aguas son someras y los suelos arenosos con bajo porcentaje de materia orgánica y en zonas de riegos o lluvias frecuentes. Su campo de actividad para nematodos incluye nematodos formadores de quistes: *Globodera* spp., *Heterodera* spp.; nematodos formadores de nódulos: *Meloidogyne incognita*, etc. y los nematodos ectoparásitos y endoparásitos: *Pratylenchus penetrans*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Ditylenchus dipsaci*, *Anguina tritici*, *Xiphinema* spp., etc.

Cloropicrina (tricloronitrometano). Fumigante que se emplea como insecticida en graneros y como nematicida en aplicación al suelo. Se formula con BM con el fin de disminuir la concentración de este último y detectar su presencia. En el aire se degrada por fotólisis a CO₂ con una vida media de unos cuatro días.

Dazomet (tetrahydro-3,5-dimetil-1,3,5-tiadia). Fumigante del suelo, prácticamente esterilizador, contra insectos, hongos, nematodos y hierbas. Su modo de acción es hasta ahora desconocido pero se supone que interfiere la acción de las enzimas sulfhidrúlicas combinándose con ellas. En suelo húmedo actúa como un tratamiento con vapor por descomposición a isotiocianato de metilo, su agente activo, formaldehído y otros productos. Indirectamente produce cierto efecto fertilizante. Su persistencia es de 6-8 semanas. En el suelo, en presencia de humedad, se degrada a isotiocianato de metilo que se evapora rápidamente, dando lugar a formaldehído, sulfuro de hidrógeno y metilamina. Recomendado en el control de *Ditylenchus dipsaci*, *Globodera rostochiensis*, *Heterodera schachtii* y sus quistes, *Meloidogyne arenaria*, *M. exigua*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica* y otros nematodos.

Metam (ácido *N*-metilditiocarbámico). Se puede encontrar en varias formulaciones como la sal amónica o metam amonio (*N*-metilditiocarbamato amónico), sal potásica o metam potasio (*N*-metilditiocarbamato potásico), sal sódica o metam sodio (*N*-metilditiocarbamato sódico), aunque en la actualidad el metam amonio no se comercializa. La sustancia activa es el metil isotiocianato, metabolito principal de la descomposición del metam-potasio y metam-sodio en el suelo. El metil isotiocianato es una sustancia química muy volátil que se difunde en el suelo en forma de gas y que posee actividad fungicida, insecticida, nematicida y herbicida. Actúa sobre las especies sensibles interfiriendo por quelación con las enzimas con radical metálico; por otra parte, impide la absorción de oxígeno en la respiración celular. La acción del metam-potasio sobre nematodos es superior a la del metam-sodio. El metam-potasio ha sido especialmente desarrollado para sustituir al metam-sodio en suelos salinos. Su vida media en el suelo es muy variable: en suelos de textura limo arenosa, pobres en materia orgánica, poco húmedos y a temperatura entre 15-20 °C su vida media es de unos pocos minutos; en suelos agrícolas francos su vida media puede alcanzar cuatro o más días. Su campo de acción son los siguientes nematodos: *Ditylenchus* spp., *Hoplolaimus* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Rotylenchus* spp., etc. El comportamiento del metam-potasio y del metam-sodio es similar pero muy distinto según sea el pH del suelo, así en los suelos ligeramente básicos se oxida y se produce metil isotiocianato, hidróxido potásico o sódico y azufre elemental, mientras que en los neutros las sales sódicas o potásicas se descomponen en metil isotiocianato, e hidrogenosulfuro potásico o sódico. En los suelos ácidos: se descompone de forma no oxidativa dando metil isotiocianato, sulfuro potásico, sulfuro de carbono y metilamina. La cantidad de metil isotiocianato que se obtiene en los suelos ligeramente básicos y neutros es máxima, mientras que en los ácidos puede no superar el 50% de la obtenida en suelos ligeramente básicos y neutros. En general, la velocidad de difusión del metil isotiocianato a través del suelo aumenta al disminuir su humedad. En suelos ricos en materia orgánica, la difusión es menos favorable y se produce un efecto de adsorción del metil isotiocianato que obliga a elevar moderadamente la dosis de aplicación. Los vapores del metil isocianato son muy fitotóxicos por lo que no debe usarse en cultivos establecidos.

Tetratiocarbonato sódico (tetratiocarbonato de sodio). Fumigante y desinfectante de suelos con actividad nematicida y fungicida. Una vez en el suelo se transforma rápidamente, dependiendo del tipo de suelo, humedad y temperatura, en S_2C (disulfuro de carbono), H_2SO_4 y $NaOH$, siendo el S_2C el agente biocida S_2C ; en un paso posterior, por oxidación bacteriana, pasa a bicarbonato sódico y sulfato sódico. El S_2C es muy volátil y se difunde por el suelo en 3-5 días. Aproximadamente entre 50-100% del S_2C se volatiliza y el resto se oxida, dependiendo de la porosidad del suelo. Pasados 30 días, los residuos en el suelo consisten en

las sales sódicas de los ácidos carbónico y sulfúrico. En el agua se hidroliza con una vida media de 30 minutos. El S₂C puede permanecer en el suelo varias horas y ser incorporado al cultivo y trasladado. Recomendado para el control de *Ditylenchus* spp., *Globodera* spp., *Heterodera* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Tylenchulus semipenetrans* y otros nematodos.

1.4.1.2. No fumigantes del suelo. Los nematicidas o nematostáticos no fumigantes pueden ser una alternativa al BM. Dentro de este grupo se incluyen **organofosforados** como etoprofos y el fenamifos, así como el **carbamato** oxamilo. Los nematicidas no fumigantes actualmente existentes en el mercado se aplican al suelo, salvo el oxamilo, que se puede aplicar foliarmente. A continuación se describen los principales productos no fumigantes utilizados para el control de nematodos (LIÑÁN DE 2009).

Etoprofos (ditiofosfato de *O*-etilo y de *S,S*-dipropilo). Organofosforado no sistémico con actividad insecticida y nematicida por contacto. Interfiere en la transmisión de impulsos nerviosos por inhibición de la acetilcolinesterasa. Su actividad residual puede durar hasta 2 meses. **Se ha observado que la biodegradación del etoprofos es más rápida en suelos que ya habían sido tratados antes con este producto que en los tratados por primera vez.** Su vida media en el suelo depende de la textura y pH; así, en suelos con alto contenido en carbono orgánico y con pH 4,5 es de 87 días y en los limo-arenosos con pH 7,2 y 7,3 es de 14-28 días. Se estima una vida media en condiciones aeróbicas de 43 días. Su campo de actividad contra los siguientes nematodos: *Criconeoides* spp., *Ditylenchus* spp., *Globodera rostochiensis*, *Helicotylenchus* spp., *Heterodera* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Trichodorus* spp., *Tylenchulus* spp., *X. index* (nematodo transmisor del virus del entrenudo corto de la vid), etc.; Su eficacia depende de la humedad del suelo; una sequía después de la aplicación puede reducirla. Se suele aplicar en presiembra o preplantación o bien una vez que el cultivo esté bien arraigado. Debe advertirse su aplicación con los oportunos carteles durante los siete días siguientes al tratamiento. La siembra o plantación puede realizarse siete días después de su aplicación.

Fenamifos (N-isopropilfosforoamidato de etilo y de 4-metiltio-m-tolilo). Organofosforado sistémico con actividad nematicida e insecticida por contacto e ingestión, de amplio espectro; se distingue por su elevada actividad sobre nematodos ectoparásitos y endoparásitos de las raíces y de la parte aérea. Puede ser absorbido por vía foliar y por las raíces, si bien únicamente se aplica al suelo. Actúa interfiriendo la transmisión de los impulsos nerviosos por inhibición de la colinesterasa. Su actividad se deja sentir tanto cuando se utiliza en tratamientos preventivos como cuando se aplica con fines curativos. Tiene además un notable

efecto secundario contra insectos, ácaros y otras plagas de la parte aérea. Su actividad se estima entre 6-8 semanas. La sustancia activa se aplica en el suelo con el agua de riego. Posteriormente es absorbida por la planta y puede ser letal para los nematodos que se encuentran en el interior de las raíces. Por su buena capacidad de distribución en el suelo controla los nematodos que se encuentran a mayor profundidad. Resulta eficaz en el control de *Aphelenchus avenae*, *Aphelenchus* spp., *Criconema* spp., *Criconemoides* spp., *Ditylenchus dipsaci*, *Ditylenchus* spp., *Globodera rostochiensis*, *Helicotylenchus* spp., *Heterodera schachtii* *Heterodera* spp., *Longidorus* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Radopholus similis*, *Rotylenchus* spp., *Trichodorus* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Tylenchulus semipenetrans*, *Xiphinema index*, etc. En cultivos herbáceos, puede usarse antes, durante y después de la siembra, así como sobre cultivos ya establecidos. En cultivos leñosos se ha de usar en primavera. Puede ser aplicado en el agua de riego, siendo su persistencia en el suelo de 3-4 meses. Su metabolismo en suelos aerobios se realiza a través de reacciones tales como oxidación, hidrólisis del éster, ruptura del anillo y transmetilación. No es aconsejable su mezcla con otros plaguicidas, salvo los expresamente aconsejados por el fabricante. No tiene efectos sobre los microorganismos del suelo. Por su acción sistémica, el uso de fenamifos requiere tener en cuenta eventuales problemas de residuos en la parte aérea de los vegetales, así como en su caso tubérculos u otras partes aprovechables para consumo de los mismos.

Oxamilo (*N,N*-dimetil-2-dimetilcarbao, *N*-metilcarbamato de *N,N*-dimetilcarba). Carbamato sistémico con actividad insecticida, acaricida y nematicida de contacto. Se absorbe por raíces y hojas, presentando traslocación acrópeta y basípeta. Interfiere la transmisión de los impulsos nerviosos por inhibición de la colinesterasa. Aplicar inmediatamente antes o a la vez que la siembra o plantación. En el campo su vida media es de una semana. Tiene alguna movilidad en el suelo y puede lixiviarse. En condiciones anaerobias, la oxidación a CO₂ y su incorporación a la materia orgánica es lenta. Controla tanto *Pratylenchus* spp., *Trichodorus* spp., y otros nematodos parásitos como *Meloidogyne* spp., además de insectos y ácaros que afectan a las partes aéreas.

A continuación se analizan los principales resultados obtenidos para el control de nematodos fitoparásitos a nivel mundial y en España:

En el cultivo de tomate en Florida (EE UU), el metam sodio a 295 l/ha en inyección y 1,3-D+PIC (35%) reducen de forma significativa la formación de nódulos de *Meloidogyne* spp. con respecto a parcelas testigo, si bien no es tan eficaz como los tratamientos de BM+PIC (35%) a 500 kg/ha de BM inyectado (NOLING & GILREATH 2004). La Universidad de California propone algunas alternativas al BM, que incluyen, en preplantación, metam sodio,

tetratiocarbonato de sodio (Enzone) o 1,3-D, y en post-plantación fenamifos o tetratiocarbonato de sodio. Para el control de nematodos formadores de nódulos en cucurbitáceas, recomienda distintos tratamientos como pueden ser etoprofos en preplantación, oxamilo en preplantación, plantación y post-plantación, 1,3-D y metam sodio en casos de presencia conjunta de *Pratylenchus*, *Longidorus* y *Paratrichodorus* con nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* (www.ucr.edu). La Universidad de Georgia (EE UU) ha estudiado los efectos del metam sodio en el control de nematodos en cucurbitáceas y ha encontrado inconsistencias en los resultados sobre el efecto de dicha sustancia como agente de control de estos parásitos (www.gsu.edu).

En California en el cultivo de flor cortada el 1,3-D resulta eficaz en suelos arenosos en los que su contenido en humedad puede reducirse a menos de un 12%, pero no es aceptable en suelos infestados de nematodos, de acuerdo con las normas de certificación de California (SCHNEIDER *et al.* 2003). El 1,3-D aplicado en goteo, así como ioduro de metilo (IM) en inyección, son dos alternativas con una eficacia comparable al del BM, tanto en poblaciones de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* como de *Tylenchulus semipenetrans* en la mayoría de patrones de vid en ensayos realizados en California, en replantación de viñedo (SCHNEIDER *et al.* 2004). En replantación de rosales el IM actúa de manera tan efectiva como el BM en las raíces y residuos de éstas del anterior cultivo y elimina nematodos fitoparásitos como *M. incognita*, *H. schachtii*, *Pratylenchus vulnus* y *T. semipenetrans* (OHR *et al.* 1996, BECKER *et al.* 1998a,b).

La mezcla de 1,3-D/PIC proporciona en suelos para pimiento en invernadero en la Región de Murcia niveles de control similares al BM para *Meloidogyne* (GUERRERO *et al.* 2004). En fresa en Huelva la misma mezcla proporciona niveles de control similares al BM, para los niveles bajos a moderados existentes de nematodos fitoparásitos (LÓPEZ-ARANDA *et al.* 2004). En viñedo el 1,3-D se ha recomendado en el tratamiento de parcelas sin cultivo destinadas a nuevas plantaciones en las que se precisa controlar *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Tylenchulus* (GOITIA 2004). Los nematicidas fumigantes, incluido el 1,3-D producen un efecto sinérgico en su utilización combinada con aportes de materia orgánica (GRECO *et al.* 1992).

1.4.2. Alternativas no químicas para el manejo de nematodos

Ante la gravedad de los problemas fitonematológicos planteados y la dificultad de su control con alternativas químicas, es necesario encontrar alternativas no químicas que se adapten a las características agroecológicas de cada área. **En la actualidad los consumidores están**

exigiendo una agricultura respetuosa con el ambiente y la salud de los ciudadanos, lo que está derivando en un cambio en el enfoque de la producción agraria hacia nuevos modelos de gestión de los cultivos, en especial para el manejo de plagas y enfermedades. A continuación se recogen las alternativas no químicas actualmente disponibles para el manejo de los problemas que causan los nematodos, principalmente del género *Meloidogyne* en los cultivos, teniendo en cuenta las propuestas realizadas por el MBTOC (2007).

Medidas sanitarias. La primera medida sanitaria es la valoración del estado fitonematológico del cultivo anterior, para poder prevenir los posibles problemas en el cultivo futuro. Es necesario tener en cuenta especialmente los síntomas de clorosis en rodales irregulares, que con frecuencia indican la presencia de nematodos patógenos. En caso de duda frente a un problema fitonematológico potencial, se debe contar con el asesoramiento de un laboratorio especializado para hacer un análisis de suelo y raíz que permita un conocimiento más exacto de las características del problema. Una vez caracterizado un problema fitonematológico grave se debe ser sumamente cuidadoso para impedir la propagación de los nematodos a través de personas, animales, aperos o el agua, procurando sobre todo no realizar movimientos de tierra contaminada.

Cuando se trate de cultivos destinados a la producción de **materiales de propagación** (semillas, bulbos, plántulas, etc.) estos **deben estar libres de patógenos** para evitar su posible incorporación al suelo en el que se van a cultivar, se deben de establecer inspecciones sanitarias y medidas cuarentenarias, que deben de estar perfectamente reguladas. En algunos casos estas características se puede observar a simple vista, pero en la gran mayoría es necesario un análisis de laboratorio para confirmarlo (DÍEZ-ROJO *et al.* 2006). Además para los patógenos de cuarentena, las certificaciones fitosanitarias deben acreditar que estos no existen en donde se multiplicó el material de propagación, que la semilla o partes de plantas usadas para su producción se encuentran libres del patógeno y que el material vegetal se protegió mediante protocolos de sanidad vegetal normalizados. Estas medidas deben completarse con otras para evitar la dispersión de nematodos y reducir en lo posible su propagación (BARRES *et al.* 2006).

Tratamientos con agua caliente. Los tratamientos del material vegetal de propagación con agua caliente son una práctica común y antigua en diversos cultivos. HEALD (1987) los propone para el control de nematodos en material vegetal infectado y en sustratos. WESTERDAHL *et al.* (2003) han destacado el interés del manejo de *Pratylenchus penetrans* en material de vivero de bulbos para ornamentales, mediante el tratamiento de dicho material vegetal con agua caliente a 49 °C durante 35 minutos o a 46 °C durante 90 minutos, para

reducir significativamente las poblaciones del nematodo. También se ha utilizado para control de nematodos formadores de nódulos en patrones de vid. Esta práctica se puede complementar con la adición de productos de síntesis, como el hipoclorito sódico (BARRES *et al.* 2006). Por otro lado, RUNIA & GREENBERGER (2004) han propuesto el uso de aire caliente como método de desinfección de suelos, estando aún en etapa de ensayo. **Los tratamientos con agua caliente tienen una función importante para el control de nematodos en medidas de cuarentena** (BARRES *et al.* 2006).

Esta alternativa se está utilizando en cultivos protegidos en Japón (KUNIYASU & TAKEUCHI 1986), sobre todo para el control de *Monosporascus* en las raíces del melón, el cual no se puede controlar con solarización (SAKAI *et al.* 1998, EGUCHI *et al.* 2002). La técnica consiste en filtrar 250 l/m² de agua caliente entre 70-75 °C, produciendo mejoras en la producción en muchos casos mayores al 30% debido al cambio en las condiciones físicas o químicas del suelo como pueden ser la eliminación de sales, la mineralización del nitrógeno procedente de los microorganismos del suelo muertos (HASHIMOTO & NISHI 2001, NISHI 2002).

Vapor de agua. Los tratamientos con vapor de agua consisten en la incorporación de vapor de agua en el suelo para matar a los patógenos mediante el calor latente liberado cuando el vapor se condensa (BUNGAY 1999). Para que sea eficaz es necesario mantener una temperatura de 70 °C durante al menos media hora para controlar enfermedades de plantas y semillas de flora arvense, aunque algunos tratamientos pueden realizarse a 60-80 °C durante aproximadamente una hora (RUNIA 1983). La temperatura del suelo y la duración de tratamiento determinan si la eliminación de patógenos del suelo es completa (esterilización) o parcial (pasteurización). La pasteurización con vapor entre 70-80 °C es tan eficaz para el control de patógenos como el BM (RUNIA 1983), con la ventaja de que mantiene una parte significativa de la microflora, la cual actúa como “barrera biológica” frente a la posible reinfeción por organismos patógenos. Si se supera esta temperatura se produce una esterilización del suelo, que da como resultado un “vacío biológico” donde cualquier microorganismo, incluidos los patógenos, puede recolonizarlo. Para corregir el “vacío biológico” que genera, inmediatamente después de la aplicación de vapor hay que agregar compost y/o algún organismo beneficioso (*Trichoderma*, bacterias benéficas) (PIZANO 2004a,b). Además, si este tratamiento a alta temperatura (80-120 °C) es prolongado puede afectar negativamente a la estructura del suelo, así como la liberación de metales pesados, acumulación de sales solubles (particularmente Mn), toxicidad por amonio, así como la aparición de sustancias fitotóxicas de la materia orgánica del suelo. Sin embargo, si se controlan los parámetros de temperatura del vapor y el tiempo del tratamiento, es una alternativa que puede utilizarse de modo eficaz para el control de los patógenos, sin efectos

fitotóxicos secundarios, por lo cual no es necesario esperar un determinado período de tiempo para efectuar la plantación del cultivo. Desde el punto de vista económico es un tratamiento costoso, tanto por el gran gasto de energía requerida como por la inversión de capital necesaria y por las limitaciones de aplicación que se presentan en algunos tipos de suelos. Estas limitaciones llevan a que no se suele justificar su uso en suelos, excepto en algunos países como Holanda donde sí es rentable. Su uso es más habitual en la desinfección de semillas, bulbos y sustratos (MBTOC 1995, ESCUER *et al.* 2004, PIZANO 2004a).

Solarización. La solarización, es una alternativa no química de control de patógenos del suelo de los vegetales y de la flora arvense descrita por KATAN (1981). Consiste en captar la radiación solar para aumentar la temperatura del suelo previamente húmedo y cubierto con una lámina de plástico transparente de polietileno por períodos prolongados (≥ 4 semanas), hasta un nivel que elimina a las poblaciones de patógenos de los vegetales del suelo (KATAN 1993). Su modo de acción se relaciona tanto con el efecto directo que tiene el aumento de la temperatura sobre los patógenos como con el estímulo que ejerce sobre microorganismos benéficos (MBTOC 1995). Por otro lado, se ha puesto de relieve que los cambios ocasionados en la microbiota edáfica propician el incremento del crecimiento y la producción en las plantas (STAPLETON & VAY DE 1984, MEDINA 2002). Su eficacia en el control de patógenos de origen edáfico mejora cuando se combina con otras alternativas. Las ventajas de combinar solarización + biofumigación (biosolarización) es reducir el tiempo necesario para la solarización, incrementar la eficacia y la consistencia de la solarización para el control de patógenos, ampliando su espectro de acción a nematodos fitoparásitos y permitiendo su utilización en condiciones de menor temperatura (MBTOC 2002), pudiéndose aplicar incluso en cultivos instalados, como se ha visto en olivo (TJAMOS 1998), tomate cherry, almendro y pistacho (PIEDRA BUENA 2004), viñedo (DÍEZ-ROJO 2006). También mejora su eficacia con los tratamientos químicos, así GRECO *et al.* (1990) redujeron la dosis convencional de 1,3-D a 100 l/ha a 35 cm de profundidad, en lugar de a 20 cm, seguido de un periodo de solarización de entre 4-8 semanas, controlando al nematodo formador de quistes *Heterodera carotae* en zanahoria y se produjo un aumento de cosecha en términos similares a los de la fumigación con 250 l/ha de 1,3-D.

La solarización por si sola, puede ser una alternativa de manejo en las áreas de clima cálido y donde las horas de radiación solar son altas. En un principio esta técnica se aplicaba en zonas áridas y semiáridas con alta radiación solar y pocas precipitaciones (MBTOC 2007), sin embargo se han desarrollado nuevas tecnologías que la están extendiendo a otras regiones donde parecía una alternativa imposible de realizar (HORIUCHI 1991, CHELLEMI *et al.* 1997a,b, LE BIHAN *et al.* 1997, GULLINO & MINUTO 1997, LAMBERTI *et al.* 2001, OZTURK *et*

al. 2002). Además su eficacia puede aumentar utilizando doble lámina de un polímero plástico e impermeable de color negro (ARBEL *et al.* 2003), doble cubierta de plástico o plástico VIF. Actualmente se están desarrollando nuevas tecnología como son la utilización de plásticos que se pueden aplicar al suelo mediante pulverización o nuevas formulaciones de plásticos con el fin de aumentar la temperatura del suelo (TJAMOS & NIKLIS 1990, CHELLEMI *et al.* 1997a,b, STAPLETON 2000, TAMIETTI & VALENTINO 2000, GAMLIEL *et al.* 2001, CEBOLLA 2002a,b, FRITSCH 2002). En el caso de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, juncia (*Cyperus* spp.), *Monosporascus* & *Macrophomina* spp. se han obtenido resultados inconsistentes.

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. ESCUER *et al.* (2004) señalan que la eficacia de la solarización es limitada para las formas móviles de nematodos, puesto que al calentarse el suelo se desplazan en profundidad y el tratamiento no tiene eficacia. 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).

Cultivares resistentes e injerto. El uso de cultivares con genes de resistencia presenta como ventaja el ser una práctica eficaz, ambientalmente segura y no costosa. Permite mantener bajas las poblaciones de nematodos y reducir los períodos de rotación de cultivos, además de no necesitar técnicas especiales para su aplicación y pueden ser obtenidos con técnicas de mejora tradicional. Para los nematodos del género *Meloidogyne* existen actualmente cultivares resistentes de tomate y pimiento disponibles a nivel comercial. **Entre sus principales desventajas está la susceptibilidad frente a poblaciones virulentas, generalmente seleccionadas por el uso reiterado de variedades o patrones resistentes.** Por tanto el uso de variedades resistentes sería válido en suelos donde las poblaciones de nematodos no son virulentas, pues de otro modo en un mayor o menor periodo de tiempo pueden incrementarse las poblaciones virulentas y afectar a la resistencia de las plantas (LACASA *et al.* 2002, ROS *et al.* 2004). Por otro lado, TRUDGILL (1991) y LEÓN DE *et al.* (2002) observaron que la resistencia se perdía cuando la temperatura del suelo era elevada y cuando las raíces eran parasitadas por hongos.

En el caso de los viñedos se ha encontrado resistencia a *X. index* en *Vitis arizonica*, *V. candicans*, *Muscandinia rotundifolia* (*V. rotundifolia*), *V. rufotomentosa*, *V. smalliana* y *V.*

soloni (KUNDE *et al.* 1968). Por otro lado, COIRO *et al.* (1990 a, b) señalan que *V. candidans* es una fuente de resistencia para *X. index* y que este nematodo no se desarrolla sobre morera. HAFNER (1988) señala la existencia de un portainjerto “Börner”, resultado del cruce de Riparia 183Gm x *Vitis cinerea*, registrado en Alemania en 1989, que es resistente a filoxera y nematodos transmisores de virus. BOUQUET *et al.* (2000) señalan que los híbridos de *V. vinifera* X *M. rotundifolia* pueden ser eficaces como portainjertos por ser resistentes a *X. index* y GFLV. MAURO *et al.* (2000) señalan la posible obtención de portainjertos resistentes de origen transgénico en Francia. CORDEAU (1998) revisa los aspectos relacionados con los portainjertos y virosis de la viña. SASSANELLI *et al.* (1999) y RIDOLFI *et al.* (2001) señalan que *X. index* no se desarrolla con eficacia en olivo, dependiendo la densidad de sus poblaciones y del contenido en fenoles de la planta.

Las principales limitaciones del empleo de cultivares y patrones resistentes se deben a que no es posible producir plantas resistentes para la amplia gama de patógenos y sus distintas poblaciones que las parasitan. Las características agronómicas de las variedades resistentes suelen ser, con frecuencia, inferiores a las de las variedades tradicionales, si bien esto último puede subsanarse realizando un injerto, donde se utilice el cultivar resistente como patrón, injertando sobre él la variedad con las características agronómicas deseadas. TELLO & LACASA (1997) encontraron que al tercer año de utilizar patrones de pimiento sobre el mismo suelo la presión de selección estableció poblaciones virulentas. ORNAT *et al.* (1999) establecían las desventajas en el empleo de tomates resistentes ligados a la calidad del fruto y a la estabilidad de la resistencia frente a temperaturas altas del suelo (>28 °C). Por tanto **el empleo de variedades con genes de resistencia debe hacerse siempre y cuando las poblaciones sean lo suficientemente bajas para que, en caso de registrar temperaturas altas, no se puedan seleccionar poblaciones virulentas.** Además algunos patógenos “menores” pueden afectar a los cultivares resistentes, generalmente cuando el suelo no está desinfectado con cualquier otra alternativa (MBTOC 2007).

Resistencia inducida. La resistencia sistémica adquirida (SAR: *Systemic acquired resistance*) es un mecanismo natural de defensa de las plantas, mediante el cual las plantas activan sus defensas en respuesta a la acción de un patógeno o de un parásito. Una planta que expresa SAR puede ser protegida contra una gama amplia de patógenos durante semanas a varios meses. Sin embargo contra algunos patógenos, estos mecanismos tienen poco efecto (WALTERS *et al.* 2005). Existen una serie de organismos del suelo que actúan induciendo resistencia en las plantas por diferentes mecanismos. Las bacterias del **género *Rhizobium*** en leguminosas, estableciendo mecanismos de competencia entre *Rhizobium* y *Meloidogyne* por zonas de la raíz, permitiéndoles soportar mayor nivel poblacional y disminuyendo los índices

de nodulación por nematodos. Las **micorrizas** son asociaciones simbióticas generalmente beneficiosas entre ciertos hongos especializados y las raíces de algunas plantas. Las micorrizas vesículo-arbusculares (VAM, *Vesicular Arbuscular Micorriza*) han sido las más estudiadas, puesto que mejoran la captación del fósforo y otros nutrientes desde el suelo, mejorando la nodulación por rizobacterias en leguminosas y el crecimiento de las plantas en general. A su vez establecen una barrera física que dificulta el acceso de los nematodos a la raíz y confiere a las plantas cierta tolerancia frente a *Meloidogyne*. En cualquier caso el incremento de fósforo en el suelo disminuye la colonización y producción de esporas. Los **endófitos** son organismos que se desarrollan normalmente en el interior de la mayoría de las especies de plantas induciéndoles resistencia. El uso de endófitos elimina la dependencia de condiciones ambientales propias de los organismos de control biológico, ampliando el rango de condiciones a aquellas que sean adecuadas para la planta (MBTOC 1995). En ensayos de campo con plantas de pepino se ha encontrado que las plantas inoculadas con endófitos eran resistentes a varios organismos fitopatógenos y tenían mayores rendimientos que las plantas no inoculadas (RYDER *et al.* 1994).

Agentes de control biológico. El control biológico se fundamenta en el uso de organismos antagonistas, tales como hongos, actinomicetos, otros nematodos o microartrópodos que reducen las poblaciones de nematodos. Los mecanismos de actuación son múltiples e incluyen la antibiosis a través de metabolitos, específicos o no, de origen microbiano, parasitismo, predación y competencia. En condiciones de equilibrio, el control biológico de nematodos se produciría de manera natural. En situaciones en las que tal equilibrio está alterado, posiblemente el fin último de las técnicas de control biológico es modificar tales condiciones, hasta conseguir otras nuevas en las que los nematodos no sean un problema para el cultivo (BARRES *et al.* 2006). Se conocen diversos organismos predadores, parásitos y patógenos que son enemigos naturales de los nematodos, pudiendo reducir las poblaciones de éstos. Generalmente los agentes de control biológico tienen un espectro de actividad estrecho y una especificidad alta con respecto al hospedador, y su eficacia varía bajo diferentes condiciones del cultivo (MBTOC 1995).

En condiciones de equilibrio, el control biológico de nematodos se produciría de manera natural. En situaciones en las que tal equilibrio está alterado, posiblemente el fin último de las técnicas de control biológico es modificar tales condiciones, hasta conseguir otras nuevas en las que los nematodos no constituyan un problema para el cultivo (BARRES *et al.* 2006). La efectividad de la aplicación de agentes de biocontrol no ha sido muy satisfactoria en suelos con alta biodiversidad, pero su uso se considera de interés para la recuperación de aquellos suelos afectados por el empleo intensivo de agroquímicos que tienen baja o nula

biodiversidad. Se considera que en lugar de introducir agentes de control biológico, lo mejor es favorecer su presencia y desarrollo utilizando criterios ecológicos que permitan incrementar la capacidad autorreguladora del sistema edáfico. **En la actualidad los agentes de control biológico existentes en el mercado no suelen ser considerados alternativas *per se* de control de nematodos** y de acuerdo con la experiencia actual no es previsible a corto plazo la sustitución de los nematicidas de síntesis por los agentes de control biológico, pero éstos sí pueden tener una función en las alternativas de control integrado o ecológico, tanto en países desarrollados como en países en desarrollo. Con carácter general, el control biológico con agentes nematicidas o nematostáticos es menos consistente y efectivo, resultando más lento en su acción que los nematicidas de síntesis (BARRES *et al.* 2006). El MBTOC (1995) realizó una revisión de los agentes biológicos más eficaces para el control de los nematodos del género *Meloidogyne*, señalando las siguientes especies:

***Paecilomyces lilacinus*.** Actinomicete antagonistas de los nematodos del género *Meloidogyne*. Su modo de acción es la penetración de la hifa en el nematodo. Este organismo actúa como parásito eficiente de huevos y juveniles dentro del huevo, disminuyendo las poblaciones del nematodo (HEWLETT *et al.* 1990), así como también parasita a las hembras, aunque en menor proporción (40% vs 70%). El parasitismo de huevos y juveniles comienza con el crecimiento de hifas del hongo en la matriz gelatinosa en que están envueltos los huevos, mientras que las hembras son parasitadas a través del ano (GAUTAM *et al.* 1995). Para que su acción sea efectiva, necesita elevadas temperaturas en el suelo y un número alto de propágulos. Es capaz de multiplicarse sobre los restos de hojas (SIDDIQI *et al.* 1995), por lo que los restos de cultivo favorecen su desarrollo. Algunos aislados resultan patógenos para seres humanos.

Bacterias del grupo *Pasteuria penetrans*. Entre los antagonistas de importancia destacan también las bacterias del grupo *Pasteuria penetrans* (sin.= *Bacillus penetrans*). Son bacterias gram negativas, formadoras de endosporas, lo cual les proporciona resistencia a condiciones adversas como el calor, la desecación o a algunos tratamientos del suelo como la solarización. Las bacterias del grupo *Pasteuria* son parásitos obligados de los nematodos fitoparásitos, siendo importantes agentes potenciales de control biológico para los principales nematodos causantes de enfermedades, dada su capacidad para evitar la reproducción y eventualmente tienen efecto letal sobre los nematodos formadores de nódulos y otros nematodos parásitos. Actúa mediante su adhesión a la cutícula de juveniles de segundo estadio (J₂) y de hembras del género *Meloidogyne* (DAVIES & DANKS 1993), reduciendo la infectividad y fecundidad de los nematodos. Su rango de hospedantes alcanza 102 géneros y 236 especies de nematodos (CIANCIO *et al.* 1994), pero su campo de acción es muy específico, por lo que ante una eventual diversidad de fitoparásitos algunos de éstos pueden escapar a tal acción nematicida

por ser altamente específica. Además, no son capaces de proliferar en el suelo en ausencia de nematodos (BARRES *et al.* 2006).

***Pochonia chlamydosporia* (sin= *Verticillium chlamidosporum*).** Hongo antagonista de nematodos, que actúa como parásito de distintas especies de *Globodera*, *Heterodera* & *Meloidogyne*. En ausencia de sus hospedantes puede sobrevivir como saprófito sobre restos orgánicos. En ensayos de inoculación de este hongo en macetas y campo se observó que el nivel de inóculo inicial así como las condiciones del ambiente edáfico en el momento de la inoculación eran determinantes para que se estableciera de modo eficaz. *P. chlamydosporia* necesita suelos aireados y disponibilidad de nutrientes, por lo cual en suelos pobres deben agregarse nutrientes o aumentarse el nivel de inóculo. A altas temperaturas (30 °C) el desarrollo del hongo es más lento que el de los juveniles dentro del huevo del nematodo, que de esa forma escapan del antagonista (LEIJ DE *et al.* 1993). La eficacia de *P. chlamydosporia* como agente de control biológico de nematodos formadores de nódulos se ve afectada por la cantidad de hongo en la rizosfera, el tamaño de los nódulos en los que se desarrollan las hembras del nematodo, así como la tasa de desarrollo de los huevos en las masas de éstos. *P. chlamydosporia* resulta menos efectivo en el control de nematodos en suelos muy infectados porque los nódulos más grandes y muchos huevos escapan al parasitismo del hongo.

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR). Son rizobacterias, que actúan como antagonistas de patógenos del suelo o, al colonizar las raíces, establecen “barreras biológicas” para eludir su invasión por nematodos y otros patógenos (KEEL *et al.* 1990). Otro efecto beneficioso observado frecuentemente es el estímulo del crecimiento en las plantas que están en contacto con las bacterias, por ello su nombre de **bacterias promotoras del crecimiento vegetal** (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*, PGPR) (SUSLOW 1982). Actualmente existen preparados comerciales de rizobacterias que se vienen utilizando con éxito, empleándose generalmente como cobertura de semillas, de modo que cuando la planta germina la bacteria coloniza a la raíz y la protege desde las primeras etapas del crecimiento, que suele ser el período más crítico (MBTOC 1995).

***Bacillus subtilis*.** Bacterias gram negativa, formadoras de endosporas, lo cual le proporciona resistencia a condiciones adversas. Su acción puede mejorar el crecimiento de las plantas al suprimir patógenos no parásitos de las raíces, o mediante la producción de sustancias biológicamente activas (BROADBENT *et al.* 1977).

***Muscodor albus*.** Hongo endofito que posee la capacidad de producir una mezcla de compuestos orgánicos volátiles capaces de controlar un rango amplio de hongos y bacterias

patógenos de las plantas y de los seres humanos (STROBEL *et al.* 2001, WORAPONG *et al.* 2001, GRIMME & ZIDACK 2007), entre ellos los de origen edáfico (STINSON *et al.* 2003, MERCIER & MANKER 2005).

Monónquidos. Por último no se debe olvidar la existencia de nematodos depredadores, especialmente del grupo de los monónquidos, aunque estos no aparecen con frecuencia en los cultivos convencionales por la acción de los agroquímicos sobre el suelo (THORNE 1927).

1.4.2.1. Biodesinfección de suelos y manejo de la materia orgánica. El aporte de materia orgánica al suelo para aumentar la fertilidad y manejar los patógenos es una práctica que se ha venido realizando desde el comienzo de la agricultura, con efectos beneficiosos tanto sobre los parámetros físicos como químicos y biológicos. Se ha probado una gama amplia de materiales para ser utilizados como enmiendas orgánicas en el manejo de nematodos fitoparásitos, hongos fitopatógenos y plantas arvenses. En suelos infestados con nematodos fitoparásitos la incorporación de materiales orgánicos ha mostrado ser un método de control satisfactorio para varios de ellos, con una eficacia dependiente de la composición química y las propiedades físicas del material, que determinan el tipo de microorganismos involucrados en su descomposición en el suelo y los productos que se obtendrán de esta descomposición. Para evitar los efectos fitotóxicos sobre el cultivo sin perder actividad biocida. RODRÍGUEZ-KÁBANA (1986, 1996) recomienda que las enmiendas orgánicas con una relación C/N entre 8-20.

El efecto nematicida de la materia orgánica se produce a través de diversos mecanismos. Los estudios realizados indican que el efecto nematicida de las enmiendas puede provenir de la liberación de compuestos tóxicos para los nematodos, así como la función que la materia orgánica tiene en el suelo, por ser un sustrato que favorece el desarrollo de la microfauna y microflora, llegando incluso a introducir microorganismos antagonistas. El principal problema en el uso de la materia orgánica es la variabilidad en la composición de los materiales utilizados (STIRLING 1991, LAZAROVITS 2004), aunque los materiales orgánicos comerciales registrados tienen una composición establecida en la etiqueta del producto, tales como extractos humíferos, materia orgánica comercial, compost y lombricompost comerciales (LABRADOR 2004). Otro aspecto negativo de las enmiendas orgánicas es que algunas pueden provocar acumulación de compuestos perjudiciales o aumentar el inóculo de algunos patógenos de suelo (COOK & BAKER 1983, RODRÍGUEZ-KÁBANA 1996). El uso de la materia orgánica combinada con otras alternativas (como por ejemplo la solarización) puede incrementar su eficacia, pudiendo utilizarse cantidades menores de materia orgánica sin perder efectividad y reduciendo los costes (BELLO *et al.* 2000, 2001, 2003).

1.4.2.2. Biofumigación o biodesinfección de suelos. La biofumigación y la biodesinfección de suelos se diferencian del uso de enmiendas orgánicas por las características especiales que deben tener los materiales utilizados como biofumigantes, por la dosis y por el método de aplicación. En primer lugar, para que un material orgánico tenga función biofumigante o biodesinfectante debe estar en vías de descomposición, lo cual no sucede con la materia orgánica que se suele agregar normalmente como abono (BELLO *et al.* 2003), que es materia orgánica estabilizada (composts o estiércoles “maduros”). Además, el método de aplicación debe favorecer estos procesos de descomposición, así como la necesidad de retener los gases que se producen durante la descomposición de la materia orgánica. Esto se debe lograr por un período mínimo de dos semanas, ya que el efecto de los gases es en la mayoría de los casos bioestático, lo que hace necesario prolongar en el tiempo su acción sobre los patógenos (GARCÍA ÁLVAREZ *et al.* 2004a,b).

La biofumigación o la biodesinfección de suelos se basan en los procesos o sustancias volátiles resultantes de la descomposición de las enmiendas orgánicas y residuos agroindustriales como fumigantes para el control de los organismos patógenos de vegetales (KIRKEGAARD *et al.* 1993b, BELLO 1998). El efecto de la biofumigación sobre la actividad microbiana es selectivo, favoreciendo a los antagonistas y disminuyendo el nivel de nematodos. Por una parte 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 y, por otra, el agregado de materia orgánica se incrementa entre 2-3 °C la temperatura de solarización, así como la profundidad del suelo a la cual llega el tratamiento (BELLO *et al.* 2000, 2001). La biofumigación con solarización (biosolarización) ha demostrado ser un método eficaz para regular las poblaciones de nematodos, patógenos fúngicos y malas hierbas. ROS *et al.* (2002) señalan que la biofumigación con solarización realizada en forma reiterada no sólo no tiene efectos negativos sobre el suelo, sino que, en comparación con suelos sin incorporación de materia orgánica, mejora el estado nutricional del suelo, aumenta los contenidos de materia orgánica, revitaliza la actividad microbiana y los ciclos biogeoquímicos. Es especialmente eficaz cuando se incluye dentro de un programa de manejo integrado de los sistemas hortícolas en lugar de ser aplicada en forma aislada (BELLO 1998, LEÓN DE *et al.* 2002).

La biofumigación permite el empleo de restos de cultivo contaminados por hongos, bacterias o virus que causan enfermedad en los cultivos. El empleo de restos de pimiento con *Phytophthora capsici* o virus del bronceado (TSWV) mezclado con estiércol fresco de oveja y gallinaza no repercutieron en el cultivo (GUERRERO *et al.* 2004). En tomate ZANÓN *et al.* (2004) realizaron un ensayo en laboratorio con plantas de tomate infectadas con el virus

ToMV y la bacteria *Clavibacter michiganensis*, concluyendo que si en la biofumigación se utilizan restos de tomate, éstos no constituyen un riesgo como fuente de inóculo para el cultivo siguiente debido a las condiciones térmicas que se dan en el invernadero.

Esta técnica, además, contribuye a resolver los graves problemas ambientales que puede generar la acumulación de residuos orgánicos. El problema de la acumulación de restos agrarios es causado por la gran producción de restos en forma concentrada proveniente de la agricultura intensiva, para los cuales los procesos naturales de degradación no son suficientes. La utilización de restos orgánicos como material biofumigante o como materia prima para composts no sólo son opciones de menor coste y menor impacto ambiental que su uso para sustituir combustibles fósiles u otros usos industriales, sino que además incrementa el valor de estos materiales, que ya no serían “desechos” sino “subproductos” del sistema capaces de aportar mejoras en la fertilidad del suelo y el control de patógenos (PIEDRA BUENA 2004). La biofumigación no tiene efectos negativos sobre el medio ambiente ni sobre la salud de los consumidores, y no presenta limitaciones para ser utilizada en producción integrada e incluso en agricultura ecológica (LEÓN DE *et al.* 2002).

1.4.3. Prácticas culturales. Las técnicas de control de nematodos fitoparásitos asociadas a prácticas de cultivo incluyen las rotaciones, asociaciones de cultivos, el barbecho y el manejo de malas hierbas, la poda y eliminación de raíces enfermas, la elección de la época de plantación, laboreo profundo, uso de cubiertas, cultivos trampa, manejo de la nutrición de las plantas, las medidas de sanidad y limpieza, el manejo del agua y del riego, así como el cultivo en sustratos y sin suelo. La regulación de las poblaciones de nematodos se facilita mediante el conocimiento de sus características agroecológicas y a través de un manejo adaptado a las condiciones que los favorecen en cada caso. Su eficacia varía según el sistema de cultivo y las condiciones ambientales de la zona, por lo cual es necesario realizar adaptaciones a nivel local según cada condición. Se puede afirmar que para la mayoría de los problemas de enfermedades se puede diseñar un sistema de cultivos adecuado para su manejo (MBTOC 1995).

Las técnicas agronómicas de manejo de la humedad, temperatura, pH y otros parámetros del suelo pueden contribuir favorablemente al control de estos patógenos, en algunos de sus estadios sensibles a las condiciones ambientales específicas. La dificultad reside en que no en todos los casos existe el suficiente conocimiento sobre cuáles son esas condiciones, y el momento adecuado para utilizar las distintas alternativas de manejo (BARRES *et al.* 2006).

Rotación de cultivos. Estas alternativas son especialmente válidas para el control de los nematodos específicos como los formadores de quistes como *Heterodera* y *Globodera* (COOKE & THOMASON 1979, COOKE 1991, 1993, DUDA & LISTE 1991, DIMOV 1997). La rotación de cultivos suele considerarse de valor limitado para nematodos con un rango amplio de hospedadores como *Meloidogyne* (TRUDGILL 1997). Para las distintas especies de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* es necesario conocer el comportamiento en relación con los hospedadores para poder planificar las rotaciones de cultivo, así por ejemplo las poblaciones de *M. javanica* procedentes de las zonas hortícolas más representativas de España, no parasitan a distintos cultivares de pimientos (ROBERTSON *et al.* 2006). Sin embargo, es posible aumentar la supresividad del sistema incluyendo cultivos que inhiban su desarrollo (MBTOC 2007). Algunas plantas son malas hospedadoras, como los cereales (maíz, sorgo), los forrajes (*Crotalaria* spp., *Eragrostis curvula*), las crucíferas (repollo, coliflor), y otros cultivos tales como sésamo, tagetes, ajo, cebolla, fresa, cacahuete (al menos para *M. arenaria*, *M. javanica* & *M. incognita*), perejil, mandioca, rábano y otros cultivos locales (ATHERTON & RUDICH 1986). Además, las brasicas producen metil-isotiocianato y compuestos relacionados que poseen actividades nematicidas y fungicidas, pudiéndose utilizar como abonos verdes en la biodesinfección de suelos. El sésamo y algunas especies de *Tagetes* también han mostrado efectos nematicidas, pudiéndose utilizar como cultivo supresor único, o entre las filas de un cultivo supresor principal como **cultivos asociados** (TANDA *et al.* 1989). También se pueden realizar **cultivos intercalares**, para reducir las poblaciones de patógenos como el nematodo formador de quistes *H. schachtii* mediante el uso de Pegleta en el cultivo de la remolacha (VILLARÍAS 1999 en URBANO 2008)

Cultivos asociados y extractos de plantas. Algunas plantas contienen compuestos alelopáticos, es decir, sustancias capaces de inhibir o ser tóxicas para el desarrollo de otras plantas, de patógenos o de nematodos. Estos compuestos vegetales pueden llegar al suelo al incorporar dichas plantas, o ser liberados al mismo mientras la planta sigue su ciclo de cultivo, cualidad que es aprovechada incluyendo dichas plantas en rotaciones o asociaciones de cultivos (MBTOC 2007). Las plantas más estudiadas han sido el neem (*Azadirachta indica*), sésamo (*Sesamum orientale*), diferentes especies de *Tagetes*, ricino (*Ricinus communis*) y mostaza (*Brassica campestris*).

Barbechos o no cultivo. Tienen por objetivo fundamental reducir las poblaciones al no encontrar el nematodo un hospedador adecuado (MBTOC 2007). La principal limitación se debe a la presencia de plantas adventicias que pueden actuar como plantas hospedadoras y hacer que la alternativa pierda su efectividad. Las plantas adventicias deben ser eliminadas de forma inmediata para que el nematodo no encuentre un hospedador adecuado, o cuando

Meloidogyne ya ha comenzado a parasitarlas pero aún no aparecen masas de huevos, utilizando las plantas como “trampa” para el nematodo. Su uso está limitado en invernaderos donde la superficie de cultivo es escasa (PIEDRA BUENA 2004). No obstante, se han descrito técnicas mixtas de barbecho y biofumigación cuyo efecto conjunto en viñedo es altamente positivo (BELLO *et al.* 2004a). Las prácticas que incluyen la destrucción o eliminación de las raíces parasitadas o susceptibles de parasitar por los nematodos, detener la reproducción de los parásitos, reducir las poblaciones de éstos y eliminar, en su caso, la parte aérea, constituyen actuaciones favorables al control de nematodos.

Época de plantación. Es la adaptación de la fecha de plantación para que coincida con épocas donde las condiciones ambientales son desfavorables para la actividad del nematodo, como son las temperaturas inferiores a 15 °C en el caso de las especies termófilas, así como cuando la densidad de sus poblacionales del mismo son bajas, para prevenir daños en los cultivos. Esta práctica puede tener limitaciones en aquellos cultivos o zonas donde el período de producción está muy limitado, ya sea por condicionantes climáticas como comerciales (MBTOC 1995).

Laboreo. El laboreo profundo puede reducir las poblaciones de nematodos al transportarlas a mayor profundidad del suelo donde no llegan las raíces, a la vez que estimula a la microflora antagonista edáfica y contribuye a la pérdida de humedad del suelo (MBTOC 1995).

Manejo de agua. En algunas áreas donde la disponibilidad de agua y de suelo no son factores limitantes se pueden realizar períodos de inundación como medida de manejo de las poblaciones de nematodos. El efecto de esta práctica proviene de la anaerobiosis que causa, la cual actúa sobre los nematodos tanto de forma directa, disminuyendo el oxígeno disponible para su respiración, como de forma indirecta, por la producción de metabolitos por parte de los microorganismos anaerobios del suelo, los cuales son tóxicos para varios patógenos edáficos (COOK & BAKER 1983). La efectividad de la inundación aumenta con la incorporación previa de materia orgánica al suelo (MBTOC 1995). Además, se debe destacar que la lluvia y el agua de riego favorecen la propagación y dispersión de los nematodos. Un manejo adecuado del riego puede ayudar a prevenir algunos casos de propagación. Las técnicas de riego localizado pueden ayudar para que no se produzca su dispersión (BARRES *et al.* 2006). Por otro lado, GOITIA (2004) ha destacado el impacto sobre la propagación de nematodos de la puesta en riego de áreas de viñedo que tradicionalmente se han cultivado en seco en la Península Ibérica.

Cubiertas vivas. Son cultivos no comerciales que se siegan en cierto estadio de madurez, dejándolos sobre el suelo como cubiertas verdes o secas lo cual permite regular la temperatura del suelo, influyendo en la duración del ciclo de los nematodos. Por otra parte, su descomposición estimula la actividad de los microorganismos antagonistas de los patógenos de suelo (MBTOC 1995).

Cubiertas muertas o malojo. También se pueden utilizar como cubiertas otros materiales, como cáscara de arroz o serrines provenientes de la industria forestal. Al igual que las cubiertas vivas, principalmente estas regulan la temperatura del suelo.

Cultivos trampa. Son una alternativa que puede contribuir favorablemente al manejo de las poblaciones de nematodos endoparásitos sedentarios, como los formadores de nódulos del género *Meloidogyne* o los formadores de quistes del género *Heterodera*. Su empleo consiste en cultivar plantas que tengan un desarrollo rápido, sobre todo con un elevado desarrollo radicular y eliminarlas en el momento oportuno, antes de que los nematodos adultos realicen la puesta de huevos, es decir completen un ciclo de vida. Resulta esencial en esta técnica destruir las raíces del cultivo trampa, para al interrumpir el cultivo interrumpir al mismo tiempo también el desarrollo de las poblaciones de nematodos. **Los cultivos trampa no resultarían eficaces en el caso de nematodos migratorios, sean ectoparásitos o endoparásitos,** puesto que los estadios juveniles y adultos se desplazan continuamente de unas raíces a otras, sin que les pueda impedir su alimentación y desarrollo. Convendría desarrollar protocolos o recomendaciones, que describan los modos de actuación más adecuados para la consecución de modo óptimo de los objetivos del cultivo trampa en el manejo de nematodos (BARRES *et al.* 2006).

Fertilización de suelo y nutrición vegetal. La resistencia de las plantas a los patógenos, cuando se realiza una fertilización y nutrición de la planta correcta, es bien conocido en agricultura. Por otro lado, hay que tener en cuenta que se ha demostrado que la fertilización nitrogenada puede tener efectos negativos sobre los nematodos fitoparásitos, y sobre todo su empleo por exceso puede repercutir negativamente en la capacidad de autorregulación de los suelos al reducir también los nematodos saprófagos y depredadores, al mismo tiempo que se ha observado un efecto negativo sobre la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, encontrando una disminución de la nodulación producida por esta bacteria en los suelos tratados con dosis altas de nitrógeno (BELLO *et al.* 1994a,b). Además una correcta fertilización puede estimular a los microorganismos antagonistas, o aumentar la resistencia del hospedador (**resistencia inducida**) o a través de otros mecanismos. La fertilización afecta tanto a la planta como a los patógenos, un ejemplo de lo cual es el efecto perjudicial que tiene la incorporación de urea o

fuentes de nitrógeno amoniacal sobre los nematodos fitoparásitos (SPIEGEL & NETZER 1984). Este efecto se puede deber a cambios en la actividad de los microorganismos del suelo (MBTOC 1995) o a los gases liberados por la descomposición biológica de estos fertilizantes en el suelo.

Sustratos. La utilización de sustratos es una alternativa muy empleada como medio de cultivo, sobre todo en determinadas formas de producción y cultivos en los que no es posible o efectivo el control de los patógenos. Su uso tiene como desventajas la desinfección de los sustratos, el manejo de residuos y prevención de vertidos, tanto de los propios sustratos como de las soluciones nutritivas (BARRES *et al.* 2006). Algunos sustratos (restos forestales compostados o no compostados) pueden tener un efecto supresivo sobre patógenos del suelo, especialmente hongos tales como *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* y varias *formae specialis* de *Fusarium oxysporum*. Su uso suele estar limitado a plantas ornamentales en maceta, pero tienen potencial para ser utilizados como fuentes de microorganismos antagonistas inductores de supresividad (DIÁNEZ *et al.* 2002, 2003).

Manejo integrado. El manejo integrado consiste en la utilización de técnicas de monitorización de las plagas y enfermedades, así como en la combinación de alternativas de manejo que sean respetuosas con el medio ambiente y viables desde el punto de vista económico. Los programas de tratamientos incluyen diferentes métodos biológicos, culturales, físicos, químicos y mecánicos, pero sobre todo hay que tener en cuenta que se deben basar en criterios ecológicos y agronómicos. En los sistemas agrarios en los cuales se venía utilizando BM, es necesario sustituir su uso a través de sistemas de manejo integrado con criterios ecológicos, tanto por las ventajas que presentan, como por el hecho de que no existe una alternativa única que tenga la misma eficacia que este agroquímico (RODRÍGUEZ-KÁBANA 1996), señalando BELLO *et al.* (1996, 1997a,b) que es necesario diseñar una metodología teniendo en cuenta cada situación.

2. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS

La restricción y posterior prohibición del uso del bromuro de metilo (BM) como fumigante de suelos por ser un potente destructor de la capa de ozono estratosférico supuso y sigue suponiendo un esfuerzo en la búsqueda de alternativas que sean eficaces. Dentro de las investigaciones desarrolladas surgen una serie de alternativas fundamentadas en la utilización de materia orgánica, dentro de las cuales se encuentran los objetivos del trabajo. En él se pretende evaluar la eficacia de las distintas fuentes de materia orgánica seleccionadas en el manejo de nematodos fitoparásitos en distintos sistemas agrarios, principalmente hortícolas y viñedo.

La biodesinfección de suelos se fundamenta en el uso de las sustancias volátiles u otros procesos químicos o biológicos generados durante la descomposición de la materia orgánica, para el manejo de organismos patógenos de los vegetales de origen edáfico.

La acción de los microorganismos sobre la materia orgánica durante su descomposición puede producir gran cantidad de sustancias químicas y procesos que permiten el manejo de los organismos patógenos en sanidad y protección vegetal. Las principales vías estudiadas se basan en la generación de compuestos nitrogenados y ácidos grasos volátiles, sin olvidarnos de otra serie de compuestos que dependen principalmente de la naturaleza de la materia orgánica utilizada. Por otro lado también se han descrito alternativas basadas en la generación de condiciones de anaerobiosis en el suelo. El uso de la materia orgánica mediante esta técnica, a través del reciclaje, ayuda a resolver posibles problemas medioambientales que puedan originar los residuos orgánicos, principalmente por su acumulación y abandono. Su eficacia se incrementa cuando la técnica de la biodesinfección se incorpora dentro de un sistema agrario manejado con criterios ecológicos, observándose que su eficacia mejora con su aplicación reiterada en el tiempo.

Las posibilidades para el desarrollo de esta alternativa son tan diversas como diversos son los restos de cultivos de origen orgánico necesarios para diseñar la utilización de una enmienda con efecto supresor de las enfermedades. Las limitaciones de uso se deben, principalmente, a la disponibilidad del material a utilizar y a los costes de transporte que pueden encarecer su aplicación.

La utilización de restos agrarios, como fuente de materia orgánica, surge como una de las posibles acciones, dentro del grupo de las alternativas no químicas, como pueden ser las medidas sanitarias, solarización, cultivos sobre sustratos, control biológico, utilización de plantas portadoras de genes de resistencia o el injerto, vapor de agua u otras prácticas culturales como la rotación de cultivos, el empleo de plantas trampa o cultivos intercalares, época de plantación, manejo del agua, la fertilización y nutrición vegetal.

Objetivo general

El objetivo general se centra en **evaluar el comportamiento agronómico de los restos agrarios de origen orgánico utilizados como biodesinfectantes del suelo para la supresión de enfermedades de los vegetales de origen edáfico, teniendo en cuenta, además, la posible mejora de las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos donde se aplican estos restos agrarios.**

Para alcanzar el objetivo general, se establecen una serie de hitos que, a modo de Objetivos Específicos permitirán acceder a la meta buscada.

Objetivos específicos

1. Evaluar la eficacia biodesinfectante de restos agrarios de origen orgánico, mediante estudios experimentales tanto en condiciones de laboratorio como de campo, en función de las diferentes dosis, técnicas de aplicación y características de los sistemas agrarios.
2. Determinar el valor fertilizante de los restos agrarios de origen orgánico en suelos agrícolas después de haber sido aplicados en protección vegetal con el objetivo de reducir la acción de los organismos patógenos.
3. Establecer un protocolo para el manejo agronómico de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, en función de la relación *Meloidogyne*-hospedante (biodiversidad funcional) y de las técnicas de manejo empleadas, especialmente en cultivos hortícolas. El protocolo se extenderá también a la solución de problemas causados por nematodos transmisores de virus en viñedo.

2.1. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS Y MATERIA ORGÁNICA

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 los vegetales de origen edáfico como bacterias, hongos, virus, nematodos, y también para la flora arvense (BELLO *et al.* 2003, DIÁNEZ *et al.* 2003, LÓPEZ-MARTÍNEZ *et al.* 2004, SANTOS *et al.* 2007, ZANÓN 2009).

Las enfermedades de las plantas de origen edáfico están causadas por patógenos tales como *Fusarium*, *Phytium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Streptomyces*, *Verticillium*, y varias especies de nematodos, entre los que destacan las especies del género *Meloidogyne*, que producen en los cultivos pérdidas de billones de dólares en todo el mundo. Los principales métodos de control son los fumigantes químicos esterilizantes y nematicidas. Las alternativas no químicas para la desinfección de suelos basadas en la utilización de materia orgánica, se están volviendo recientemente más viables para los productores (MBTOC 2007). Al revisar la bibliografía sobre el manejo de nematodos fitoparásitos mediante el uso de materia orgánica, observamos que se producen mejoras en la producción (COOK & BAKER 1983, HOITINK 1988, D'ADABBO 1995), aunque no diferencian si la materia orgánica actúa como enmienda o como supresor de las enfermedades. STIRLING (1991) observa que el efecto nematicida se produce a través de distintos mecanismos, pudiendo provenir su acción de la liberación de compuestos tóxicos, o porque al favorecer el desarrollo de la microflora y microfauna edáfica se incrementan además los microorganismos antagonistas.

El uso de las enmiendas orgánicas para el control de patógenos se diferencia de su empleo como mejorador de las propiedades del suelo, por las características de los materiales utilizados, por la dosis y por el método de aplicación (PIEDRA BUENA 2004). Para ello, es fundamental usar materiales orgánicos en vías de descomposición, con una relación C/N entre 8-20 (BELLO *et al.* 2000). Con respecto a la dosis, se procura que cumplan con el Real Decreto 261/1996 de 16 de febrero sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. El método de aplicación debe de tener en cuenta la necesidad de retener gases, puesto que estos por lo general tienen un efecto biostático, lo que hace necesario prolongar en el tiempo su acción sobre los patógenos (DÍEZ-ROJO 2006, ZANÓN 2009).

2.1.1. Biofumigación

El concepto “Biological fumigation” fue utilizado por KIRKEGAARD *et al.* (1993a), empleando el término **biofumigación** en KIRKEGAARD *et al.* (1993b) y en MATTHIESSEN & KIRKEGAARD (1993), apareciendo por primera vez en una revista internacional en ANGUS *et al.* (1994). KIRKEGAARD & SARWAR (1998) definen la biofumigación como: “*the suppression of soil-borne pest and pathogen by brassica rotation or green manure crops*” (KIRKEGAARD *et al.* 1993a,b, ANGUS *et al.* 1994). En estos trabajos se hace referencia a los efectos supresivos asociados a la liberación de isotiocianatos generados durante la hidrólisis de los glucosinolatos, mediante la acción de la enzima mirosinasa, presente en las brasicas (LAZZERI & MANICI 2000, LAZZERI *et al.* 2004). Los isotiocianatos tienen actividad biológica, siendo su acción comparable a la del metam-sodio, fumigante de amplio espectro que genera metil-isotiocianato (ANGUS *et al.* 1994). La concentración de isotiocianatos en el suelo una vez incorporadas las brasicas depende de la ruptura celular de los tejidos de las plantas, de la humedad y de la temperatura, siendo su eficacia mayor cuando estas aumentan. Por otro lado, la degradación de los glucosinolatos es mayor en los suelos arcillosos que en los arenosos (GIMSING *et al.* 2008). Además, la eficacia en el control depende de la especie de brasicas utilizada y del tipo de suelo. La reducción de densidad de inóculo de *Verticillium dahliae* utilizando *Brassica carinata*, *Eruca carinata* y *Sinapis alba* varía con la especie de crucifera utilizada, así como con el tipo de suelo, sugiriendo que existe una relación entre la actividad de las poblaciones microbianas y la reducción de la densidad del patógeno (AVILÉS GUERRERO *et al.* 2008).

Posteriormente, BELLO *et al.* (1999, 2000, 2003) definen la biofumigación como “la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el manejo de los patógenos de las plantas, incrementándose su eficacia cuando se incluye en un sistema integrado de producción de cultivos”. Amplían con respecto a los trabajos anteriores la acción biofumigante a todo tipo de materia orgánica y restos agroindustriales, recomendando aquellos que tengan una relación C/N entre 8-20. La biofumigación utiliza los gases y otros productos resultantes de la descomposición de las enmiendas orgánicas y restos agroindustriales, como fumigantes para el manejo de organismos del suelo patógenos de vegetales, se contribuye con ello, además, a resolver problemas graves que estos productos pueden producir debido a su acumulación en el medioambiente. En las publicaciones presentan resultados de su aplicación en cultivos de cucurbitáceas, pimientos, tomate, zanahoria, otras hortalizas, fresón, platanera, cítricos, frutales, viñedos y flor cortada en diferentes ambientes de la región mediterránea, obteniendo una eficacia similar a los fumigantes convencionales, al mismo tiempo que incrementan los nematodos saprófagos,

mejoran las características del suelo y la nutrición de la planta. Señalan la necesidad de diseñar una metodología para cada situación, diferenciándose del empleo de materia orgánica como mejorador de suelos la dosis y el método de aplicación, pero sobre todo en su función para el manejo de patógenos. La eficacia de la biofumigación se incrementa cuando se incorpora dentro de un sistema de manejo integrado de cultivos (BELLO 1998, BELLO *et al.* 1999). Esta alternativa puede ser de gran interés en países en vías de desarrollo debido al bajo coste y facilidad de aplicación (MBTOC 1997, 1998).

Las brasicas contienen una alta proporción de glucosinolatos, que por la acción de los microorganismos se transforman en compuestos biocidas, principalmente isotiocianatos y compuestos. Además se pueden utilizar para fabricar “pellets” con efecto biocida. Plantas deshidratadas de *Brassica juncea*, *Cleome hasslerian*, *Iberis amara*, *Lepidium sativum* y *Rapistrum rugosum* se pueden emplear en tratamientos orgánicos para el control de patógenos. La utilización de abonos verdes por su efecto biocida se considera también como una alternativa futura en el control de patógenos, no sólo en un modelo de agricultura ambientalmente respetuosa o como una alternativa al uso de BM, sino también en agricultura orgánica o ecológica (LAZZERI *et al.* 2004). En la actualidad se está estudiando el efecto biofumigante de las harinas de semillas de *B. juncea*, *B. napus* y *Sinapis alba* después de haberlas sometido a procesos industriales de extracción del aceite e incluso de emulsiones aceitosas procedentes de extractos de brasicas (LAMONDIA & HALBRENDT 2008, LAZZERI *et al.* 2008)

KIRKEGAARD *et al.* (2008) estudian el potencial de la biofumigación, utilizando brasicas, para el control de *Ralstonia solanacearum* y de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en sistema de producción de cultivos bajo condiciones tropicales. Durante el estudio observaron que la supresión de patógenos está relacionada con los isotiocianatos que se liberan en la descomposición de los tejidos de las brasicas y con otros procesos o sustancias que no tienen relación con los isotiocianatos. Además observan la supresión de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* ocurre generalmente cuando se incorpora cualquier tipo de materia orgánica, sea o no de brasicas, y a menudo no tiene relación con el contenido en glucosinolatos, siendo su eficacia pocas veces mejor con las brasicas, que cuando se utilizan otros tipos de abonos verdes, a no ser de que los experimentos se realicen en condiciones de sellado, que favorecen la producción de compuestos volátiles. **Observa que cuando se separan las fases sólida, líquida y gaseosa obtenidas de las descomposición de las brasicas y se aplican individualmente o combinadas, todos los compuestos son eficaces en el control de nematodos.** Además señala que entre las brasicas, sólo algunas líneas de *Raphanus sativus*, que no son buenos hospedadores de los nematodos formadores de

nódulos del género *Meloidogyne*, pueden reducir las poblacionales de manera similar al sorgo cuando se cultiva como abono verde. Sin embargo para la supresión de *R. solanacearum* en el suelo se dan dos mecanismos diferentes. El primer mecanismo se debe a la clásica definición de biofumigación, es decir por la liberación a corto y largo plazo de isotiocianatos. El segundo mecanismo no tiene relación con el contenido en glucosinolatos, ocurre a las tres o cuatro semanas y está relacionado con la composición de la materia orgánica empleada. Este estudio, con experimentos adicionales utilizando fuentes de carbono y de nitrógeno puros confirma que **los compuestos nitrogenados de las enmiendas son los más activos en la supresión de patógenos, por lo que las fuentes de nitrógeno solas pueden reproducir los efectos de supresión**. Utilizando T-RPLF sugiere que esta supresión no está relacionada con un cambio general de la comunidad biológica del suelo, pero si a cambios más específicos de la comunidad microbiana.

Se han ensayado gran cantidad de materiales como enmiendas orgánicas para el control de nematodos, hongos, bacterias y virus fitoparásitos, e incluso se han obtenido buenos resultados para el manejo de la flora arvense (DIÁNEZ *et al.* 2002, 2003, PIEDRA-BUENA 2004, LÓPEZ-CEPERO *et al.* 2007, LÓPEZ-CEPERO 2009, ZANÓN 2009). Durante la descomposición de la materia orgánica se liberan una gran cantidad de productos químicos que realizan el control de los patógenos de suelo. Entre estos compuestos se encuentran amoníaco, nitratos, sulfuro de hidrógeno, ácidos orgánicos, sustancias orgánicas volátiles, enzimas, fenoles, etc. (BARRES *et al.* 2006).

Muscodor albus Worapong, Strobel & Hess es un hongo endofito descubierto recientemente en la canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breyne). Este hongo posee la capacidad de producir una mezcla de compuestos orgánicos volátiles capaces de controlar un amplio rango de hongos y bacterias patógenos de las plantas, así como de los seres humanos, denominándola **micofumigación** (STROBEL *et al.* 2001, WORAPONG *et al.* 2001), entre ellos los de origen edáfico (STINSON *et al.* 2003, MERCIER & MANKER 2005). Entre los compuestos orgánicos volátiles que produce destacan varios alcoholes, ácidos, ésteres, cetonas y lípidos, que tienen una acción sinérgica (STROBEL *et al.* 2001). Por otro lado, GRIMME & ZIDACK (2007) señalan que para el caso de los nematodos formadores de nódulos su acción es limitada, sin embargo RIGA *et al.* (2008) demuestran que tiene propiedades nematocidas para todos los nematodos que ensaya, excepto para *M. hapla*, donde su actividad es nematostática en los experimentos *in vitro*, mientras que en los realizados en suelo la mortalidad es del 100%.

2.1.2. Desinfestación biológica de suelos

BLOK *et al.* (2000) describen las bases científicas, la técnica de aplicación y exponen los resultados obtenidos para el control de *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagui* y *Rhizoctonia solani*, apareciendo el término **desinfestación biológica de suelos** (BSD, *biological soil disinfection*) por primera vez en GOUD *et al.* (2004). La técnica de **desinfestación biológica de suelos**, consiste en la **creación de condiciones de anaerobiosis** en el suelo para el control de plagas y enfermedades de origen edáfico de los vegetales. La alternativa de control se basa en la incorporación de enmiendas orgánicas frescas (pastos, forrajes, restos de patata), que producen un incremento en la respiración microbiana durante su descomposición creando condiciones de anaerobiosis en los suelos. Además los tratamientos son cubiertos con láminas de plástico impermeable que impiden la entrada de oxígeno de nuevo al suelo. Los primeros estudios de BSD se realizaron para el control de *V. dahliae*, *F. oxysporum* f.sp. *asparagui* y *R. solani* en dos localidades holandesas comparando el tratamiento BSD con un abono verde de raygrás italiano (*Lolium multiflorum*) o de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cubierto con una lámina de plástico, además de un control no tratado, enmienda vegetal sin cubrir con lámina de plástico y lámina de plástico sin la incorporación de ninguna enmienda.

BLOK *et al.* (2000) observan que para una significación $P = 0,05$ sólo existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de BSD con respecto al resto de tratamientos para todos los patógenos, con la excepción de *R. solani* en una localidad, donde no existen diferencias entre los tratamientos. Las condiciones de anaerobiosis completa, menos del 1% de oxígeno, sólo se detectaron en los tratamientos con BSD, aunque en los tratamientos cubiertos con lámina de plástico también se produjo un descenso en la concentración de oxígeno, aunque esta aumento rápidamente a partir de la cuarta semana, mientras que en los tratamientos de BSD este aumento se produjo a partir de la séptima semana. Además estudiaron los posibles efectos de la temperatura y del potencial redox, observando que **la temperatura no tiene ningún efecto en el control de los patógenos** y que en los tratamientos con BSD se produce una fuerte reducción del potencial redox, mientras que este fenómeno no se observa en los tratamientos que sólo llevaban lámina de plástico. GOUD *et al.* (2004) analizan la influencia de la aplicación de la BSD y su efecto sobre *V. dahliae* y *Pratylenchus fallax* a lo largo del tiempo, en un experimento de cuatro años de duración. Incorporan raygrás italiano como enmienda orgánica en dos localidades holandesas. Después de realizar los tratamientos cultivaron *Acer platinoides* y *Catalpa bignonioides* durante cuatro años. Los niveles de *V. dahliae* se redujeron después de la BSD en un 85% con respecto al control, no incrementándose durante los siguientes cuatro años. Las poblaciones

del nematodo endoparásito *P. fallax*, que es conocido por su interacción con *V. dahliae*, tanto en suelo como en raíz se redujeron entre 95-99%. La incidencia de infección por *V. dahliae* en las plantas se redujo entre 80-90%, produciéndose la muerte de un número de plantas menor. Las poblaciones de *V. dahliae* se redujeron significativamente en *A. platinooides* en una de las localidades durante los cuatro años de estudio, mientras que en la otra sólo durante los dos primeros. El valor comercial del cultivo fue de 140 €/ha, mayor en las parcelas donde se realizó BSD para *A. platinooides* y 190 €/ha más alto que para el control para *C. bignonioides*. BSD fue un método de control eficaz, económicamente viable y respetuoso con el medioambiente para los viveros de árboles.

Por último, MESSIHA *et al.* (2007) estudian el efecto de la BSD en la supervivencia de *Ralstonia solanacearum* raza 3 biovar 2 a tres niveles de experimentación distintos: mesocosmos, medio artificial que reproduce el natural, bajo condiciones controladas de laboratorio, en microparcels al aire libre y en un campo de patata comercial infectado por la bacteria. En los tres experimentos se redujo la población de *R. solanacearum* entre un 92,5-100%. En todos los casos emplean enmiendas orgánicas de fácil descomposición, utilizando en el mesocosmos y en las microparcels restos de gramíneas (“grass”) mezclados con el suelo al 0,1% (peso/peso) y en el campo comercial incorporan el cultivo de patata infectado como si fuera un abono verde a una dosis aproximada de 30 t/ha, puesto que estaba infectado por la bacteria, que es un organismo de cuarentena. Se realizan los tratamientos siguientes: sin enmienda y sin plástico (control), con enmienda y sin cubrir con plástico, con enmienda y con plástico (BSD) y sólo plástico, mientras que en el campo comercial se comparan la incorporación del cultivo de patata cubierto (BSD) y sin cubrir con plástico. **La aparición de anaerobiosis en los mesocosmos ocurre a los tres días después de haber iniciado el experimento**, siendo el porcentaje de oxígeno de $1,7 \pm 0,21\%$ lo cual indica anaerobiosis total, mientras que en los controles y en la que se había incorporado el abono verde de gramínea y no se cubrió con plástico fue de $16,8 \pm 0,97\%$ y $14,9 \pm 0,88\%$ respectivamente. A la semana todos los tratamientos tenían un porcentaje de oxígeno mayor del 16%, mientras que en la BSD era menor del 1%. Con respecto a la supervivencia de *R. solanacearum* no se observan diferencias estadísticamente significativas a los 17 días después de haber comenzado los experimentos, mientras que **a los 35 días en la BSD la bacteria está completamente erradicada**. En las microparcels ocurre algo similar con respecto a la aparición de anaerobiosis, observando además que los incrementos de temperatura a 15 cm de profundidad en el suelo cubierto con plástico fueron de 4,4 °C, no pasando la temperatura de 37 °C. Con respecto a las poblaciones de *R. solanacearum* en las microparcels fue significativamente más baja que en los tratamientos control. En la parcela comercial siete días después de haber iniciado el experimento los niveles de oxígeno eran de $0,03 \pm 0,03\%$ lo cual indica

anaerobiosis total, mientras que en el resto del campo era de $15,28 \pm 1,63\%$, determinándose también trazas de metano. Sin embargo a los 35 días los niveles de oxígeno de la BSD era de $9,44 \pm 2,48\%$ puesto que el plástico se rompió por la acción de los pájaros y se incrementó el nivel de oxígeno. En las parcelas de BSD no aparecieron restos de tubérculos de patata ni de plantas arvenses, mientras que si aparecieron en las parcelas control. De los restos de patata que quedaron en las parcelas control el 30% estaban infectadas por *R. solanacearum*. También se analizaron patatas que se habían enterrado a distintas profundidades y que estaban infectadas. En las patatas analizadas de las parcelas donde se realizó BSD no se detectó la presencia de *R. solanacearum* en ninguna de las muestras, mientras que en los controles el 55% dio positivo. Al mismo tiempo se analizó el suelo adherido a las patatas enterradas, encontrando que en los controles el 75% de las muestras eran positivas, mientras que sólo fueron el 5% en las que se aplicó BSD. Con respecto a las poblaciones de *R. solanacearum* del suelo a la profundidad entre 0-15 cm se encontraron diferencias estadísticamente significativas, hecho que no ocurrió a las profundidades entre 30-45 cm, aunque si se observó que la población en BSD era menor. En el trabajo también estudió la diversidad bacteriana del suelo con PCR-DGGE observando que se producían cambios en la composición de las poblaciones, que eran persistentes incluso después de incubar las muestras durante tres semanas.

La BSD es diferente de la biosolarización debido a que la muerte del patógeno no se debe a temperaturas altas (BLOK *et al.* 2000). Se ha demostrado que este método es eficaz en varios campos experimentales a gran escala y es válido para su aplicación en cultivos de gran valor comercial. La BSD tiene un amplio espectro para el control de muchos hongos y nematodos del suelo parásitos de los vegetales con una eficacia similar a la del BM (BLOK *et al.* 2000, SIKKEN 2003).

Efectos prolongados de la BSD sobre la densidad de inóculo de *V. dahliae* en suelos. En los campos experimentales de BSD se redujo en un 85% los niveles de inóculo de *V. dahliae* cuando se comparó con el control ($P < 0,01$). En las parcelas tratadas con BSD, la recolonización del suelo por el patógenos no ocurre, no encontrando diferencias entre las parcelas donde se cultivó *A. platinooides* con respecto a *C. bignonioides*. Después del tratamiento con BSD la incidencia de infecciones por *V. dahliae* se redujo entre 80-90% comparada con el control en *A. platinooides* pero no en *C. bignonioides*. No encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la incorporación de raygrás y la utilización de las cubiertas de plástico. La BSD produjo un porcentaje más bajo de verticiliosis. Se observó una reducción significativa del número de *Pratylenchus* spp. en suelo y en plantas comparándolo con el control, resultando significativo la utilización de plásticos para el control

de *Trichodorus*. Las poblaciones de *P. fallax* se redujeron entre 95-99% después de la BSD, observándose su efecto en el segundo año. Aparentemente, el periodo entre el final del tratamiento del suelo y la plantación de un cultivo susceptible (la mitad de año durante el invierno) fue suficiente para restablecer la biota del suelo que causa la supresividad de una enfermedad lo que indica que los antagonistas específicos no se eliminan con la BSD. Concluyen, que estos resultados confirman que la BSD no aumenta la conductividad en el suelo de las verticiliosis. La BSD tiene un amplio espectro para el control de muchos hongos y nematodos del suelo parásitos de los vegetales con una eficacia similar a la del BM (BLOK *et al.* 2000, SIKKEN 2003).

En Japón, a esta alternativa se la llama **reducción de potencial redox**. En este caso trabajan con enmiendas orgánicas ricas en carbono como la cascarilla de arroz, salvado de trigo, serrín o pastos, lo incorporan en el suelo y después aplican un riego hasta saturación. Posteriormente cubren la superficie del suelo con una lámina plástica transparente de polietileno durante al menos treinta días para combinarlo con los posibles efectos de la solarización. Debido a la incorporación de la enmienda orgánica se produce un aumento de las poblaciones de microorganismos del suelo que consumen rápidamente el oxígeno creando condiciones anaeróbicas y reductoras en el suelo. Además observan la formación de ácidos orgánicos, que pueden ser AGV, que son letales para los patógenos de origen edáfico. Se observa también que la prolongación en el tiempo de las condiciones de anaerobiosis en el suelo presenta mejores resultados sobre las estructuras en dormancia, además de producirse un aumento de la temperatura del suelo alcanzando entre 30-40 °C, que son más bajas que las que se alcanzan con la solarización, por lo que proponen la alternativa para las zonas de su país en las cuales no se puede realizar solarización (SHINMURA 2004, TAKEUCHI 2004, WATANABE 2006).

2.1.3. Desinfestación selectiva de suelos

LAZAROVITS (2004) trata de establecer los fundamentos teóricos del uso de la materia orgánica en el manejo de los organismos de origen edáfico causantes de enfermedades en los vegetales, proponiendo el nuevo término: “desinfestación selectiva de suelos” (*soil selective disinfestation*), basándose en el hecho de que los compuestos tóxicos generados durante la descomposición de la materia orgánica añadida al suelo no mata a todos los organismos, sino que tiene una acción selectiva sobre las poblaciones microbianas. Por ello, considera que el término “*selective soil disinfestation*” puede ser más apropiado que el de “biofumigación” (“*biofumigation*”), que viene utilizándose con mayor frecuencia. Considera que el proceso es distinto de una “fumigación” (“*fumigation*”), que tiene un efecto biocida más amplio. Señala que se desconoce para qué organismos es letal la materia orgánica y cuáles son los que se

incrementan, planteando la hipótesis de que los organismos que presentan una gran actividad biológica se incrementan debido a su capacidad para detoxificar o utilizar los productos resultantes de la “degradación” de la materia orgánica para su multiplicación. Por el contrario, considera que aquellos que no tienen esa capacidad mueren por encontrarse en “dormancia” (biostasis). Por ello, señala que **el momento óptimo para su aplicación sería cuando el patógeno se encuentra en fase de dormancia**. En este sentido conviene destacar que utilizan como modelo *Verticillium dahliae*, que es formador de microesclerocios, estructuras que permiten al patógeno sobrevivir en el suelo durante largos periodos de tiempo, incluso en ausencia de huéspedes. **También indica, que el uso de la materia orgánica se puede considerar una forma de control químico, debido a que su efecto en el manejo de los organismos del suelo se debe a la acción de los compuestos tóxicos producidos por los microorganismos cuando la degradan**, aunque señala que la materia orgánica por sí sola no es tóxica, puesto que no se forman compuestos tóxicos cuando se aplica en un suelo estéril. **Por último, considera que la materia orgánica no llega a sustituir a los fumigantes químicos en el caso de que los campos se encuentren fuertemente “infestados”**.

El equipo del Profesor George LAZAROVITS, desde 1999 ha publicado diversos trabajos sobre sus investigaciones a través de ensayos a nivel del microcosmos de laboratorio con diferentes productos que han sido identificados en la bibliografía y que son eficaces para el control de patógenos de origen edáfico, entre ellos la harina de sangre, de carne y huesos, soja, plumas y pescado (CONN & LAZAROVITS 1999, LAZAROVITS *et al.* 1999, 2001, LAZAROVITS 2001, TENUTA *et al.* 2002, BAILEY & LAZAROVITS 2003, ABBASI *et al.* 2009), encontrando con frecuencia inconsistencias en la eficacia de estos materiales en el control, que están relacionadas con las propiedades de cada suelo. **En suelos arenosos, la harina de carne y huesos, la harina de soja, la harina de pescado y la gallinaza reducen la incidencia de las enfermedades producidas por *Verticillium* y por la sarna de la patata causada por *Streptomyces scabies*, así como las poblaciones de nematodos patógenos (LAZAROVITS *et al.* 1999). Dosis del 2% (peso/peso) de materia orgánica con alto contenido en nitrógeno, son letales para la mayoría de microesclerocios de *V. dahliae* en un suelo arenoso en una semana, sin la necesidad de que esté presente un agente de control biológico (HAWKE & LAZAROVITS 1994, TENUTA & LAZAROVITS 2002a).**

Sin embargo, la misma dosis en un suelo arcilloso no tiene efecto sobre la viabilidad de los microesclerocios (TENUTA & LAZAROVITS 2002a, 2004). Por otro lado, WILHELM (1951) indica que la harina de sangre y la de pescado reducen la incidencia de *Verticillium* en tomate, aunque no explica las causas.

TENUTA & LAZAROVITS (2004) señalan que cuando la muerte de los microesclerocios de *V. dahliae* ocurre a los pocos días de la aplicación de una enmienda orgánica rica en nitrógeno, ésta se debe a la acumulación de amoniaco producido al descomponerse la enmienda, mientras que si la muerte se retrasa hasta las seis semanas después de haber aplicado la enmienda se debe a la acción del ácido nitroso. TENUTA & LAZAROVITS (2002b) **consideran que la muerte de los microesclerocios de *V. dahliae* se produce por la acción del amoniaco (NH₃), una semana después de haber incorporado en el suelo al 2,5% (peso/peso) una enmienda rica en nitrógeno de harina de carne y huesos.** La descomposición microbiológica de la enmienda provoca una acumulación de amonio (NH₄⁺) y un incremento del pH del suelo. Cuando el pH es mayor de 8,5 parte del amonio se convierte en amoniaco alcanzándose el equilibrio NH₄⁺ ↔ NH₃ a valores de pH=9,3. El amonio no es tóxico, incluso a altas concentraciones, mientras que el amoniaco es muy tóxico. **El amonio en los suelos con alto contenido en carbono orgánico no se acumula, convirtiéndose rápidamente por los procesos de nitrificación en nitrito (NO₂⁻) y posteriormente en nitrato (NO₃⁻)** (TENUTA & LAZAROVITS 2002b, 2004). Se ha demostrado experimentalmente que la nitrificación se puede inhibir en suelos con contenidos altos en carbono orgánico. Mediante la adición de arena se puede disminuir el contenido de carbono orgánico por debajo del 2%, permitiendo así la formación de amoniaco. Sin embargo, aumentando el contenido de carbono orgánico en un suelo arenoso, mediante la adición de un suelo *muck*, se impide la acumulación de amoniaco (TENUTA & LAZAROVITS 2004). La sensibilidad de los patógenos al amoniaco varía, siendo necesaria una concentración de 4,5; 5,7; 7,3 y 18,3 mM de amoniaco respectivamente para ser letal para el 95% de los microesclerocios de *V. dahliae* y de *Sclerotinia sclerotiorum*, las esporas de *Streptomyces scabies* y *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (TENUTA 2001). Por otro lado, GAMLIEL & STAPLETON (1993) señalan que la solarización más la adición de gallinaza incrementa el control de las enfermedades sobre los tratamientos de solarización y el uso de gallinaza por separado. Resultados similares han encontrado STEVENS *et al.* (2003) con la reducción de la incidencia de *Sclerotium rolfsii* y *M. incognita* en el cultivo de batatas, tanto en el tubérculo como en las raíces. Las bacterias nitrificantes son sensibles a las altas temperaturas y a la solarización, muriendo al mes en la parte superior de un suelo donde se acumula el amonio. Por otro lado, el amoniaco generado se volatiliza de modo más lento cuando el suelo está cubierto con un plástico (LAZAROVITS 2004). Además, la eficacia para matar los microesclerocios de *V. dahliae* se incrementa gradualmente según aumenta la temperatura, debido a que disminuye el pKa del equilibrio NH₄⁺ ↔ NH₃ (9,3; 8,9; y 8,5 a 24, 35 y 50 °C respectivamente), por lo cual se incrementa la concentración de moléculas activas. El **efecto sinérgico** entre la solarización y la materia orgánica nitrogenada para el control de patógenos,

requiere de estudios más profundos, con el fin de reducir las dosis de aplicación y la duración de la solarización (TENUTA & LAZAROVITS 2002b).

El uso de la materia orgánica con alto contenido de nitrógeno para controlar patógenos y plagas del suelo mediante la producción de amoníaco pasa a ser en la mayoría de los casos inapreciable. Las dosis altas requeridas (> 500 kg N/ha) pueden causar fitotoxicidad (RODRÍGUEZ-KÁBANA 1986), contaminar aguas subterráneas y producir gases de efecto invernadero. Las dosis más bajas se necesitan en suelos con bajo contenido de carbono y alto contenido de arena.

Por otro lado, en otros suelos la muerte de los microesclerocios ocurre entre 2-3 semanas después de la aplicación de productos con alto contenido en nitrógeno en baja proporción (0,25-0,5% peso/peso) (TENUTA & LAZAROVITS 2002a). Este proceso se relaciona con la formación de ácido nitroso (HNO_2). Después de la formación de nitrito (NO_2^-) se produce una bajada del pH en el suelo, que cuando está por debajo de 5,5 parte del nitrito se convierte en ácido nitroso (HNO_2) alcanzándose el equilibrio a $\text{NO}_2^- \leftrightarrow \text{HNO}_2$ a $\text{pH} = 3,3$. El ácido nitroso es 500 veces más tóxico que el amoníaco para patógenos vegetales como *S. scabies*, *F. oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* y semillas de plantas arvenses. La formación de ácido nitroso depende de la capacidad tampón del suelo debido a que en los suelos tamponados, el pH no se cambia fácilmente (TENUTA *et al.* 2002, TENUTA & LAZAROVITS 2002a,b, 2004). Los trabajos de TSAO & OSTER (1981) señalan el efecto tóxico del ácido nítrico y del amoníaco para el control de patógenos vegetales de origen edáfico, mediante la incorporación de gallinaza. CONN & LAZAROVITS (2000) señalan, que **cuando se aplica en Canadá materia orgánica en otoño, la transformación en nitrato (NO_3^-) es más lenta, debido a que las temperaturas son más frías, y las concentraciones de nitroso (HNO_2) suelen ser más altas debido a que el pH del suelo es más bajo durante este periodo**. La sensibilidad de los patógenos al ácido nitroso varía con la concentración, siendo necesaria para matar el 95% de los microesclerocios de *V. dahliae* y *S. scabies*, las esporas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *S. sclerotiorum* una concentración de 0,020; 0,035; 0,105 y 0,440 mM respectivamente (TENUTA 2001).

CONN & LAZAROVITS (1999, 2000) y CONN *et al.* (2005) señalan que al aplicar purines de cerdo a la dosis de 5700 l/ha pueden reducir la incidencia de *V. dahliae* en patata. En este caso los ácidos grasos volátiles (AGV) son los responsables de la muerte de los microesclerocios. La acción se debe principalmente a la formación de ácido acético, representado en un 60% de los AGV formados, pero también a otros como el propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico y capríico, observando que al realizar una mezcla proporcional de AGV idéntica

a la que se encuentra en los purines se reproduce la mortalidad sobre los microesclerocios. La acción de los AGV está condicionada por el pH del suelo, puesto que sólo son tóxicos en su forma de ácido. El ácido acético a $\text{pH} = 3$ no está ionizado, siendo tóxico, sin embargo a $\text{pH} = 6$ se encuentra en forma de acetato que no es tóxico, estando el equilibrio a $\text{pH} = 4,7$. Por ello, **pequeños cambios en el pH pueden hacer que el control tenga mayor o menor éxito**. Estas relaciones son similares a las encontradas para los compuestos nitrogenados formados en la descomposición de las enmiendas orgánicas. Los purines de cerdo son letales para los microesclerocios de *V. dahliae* cuando el $\text{pH}_{\text{suelo}} < 5,5$ por la acción de los AGV o por la formación de ácido nitroso, mientras que cuando el $\text{pH}_{\text{suelo}} > 8,5$ la acción tóxica se debe a la formación de amoníaco, no siendo eficaces a pH neutros e intermedios a los anteriores (LAZAROVITS 2004). Por otra parte, ABBASI *et al.* (2004) encuentran que las materias orgánicas de pescado suprimen las enfermedades causadas por *Rhizoctonia solani* y *Pythium aphanidermatum* en turba mezclada con suelo. ABBASI *et al.* (2009) obtienen los mismos resultados cuando incorporan una emulsión de pescado rica en nitrógeno observando que cuando las concentraciones aplicadas son altas (1-2%) la muerte de los microesclerocios tiene lugar tras los primeros días, mientras que cuando utilizan una harina de pescado en bajas proporciones (0,25-0,5%) la muerte de los microesclerocios no comienza hasta 6 días después de su incorporación. También analizan el efecto que tienen los AGV de la emulsión de pescado. Los resultados obtenidos son similares a los trabajos analizados anteriormente, observando que en la emulsión de pescado, el AGV que aparece en mayores proporciones es el ácido glicólico (52,5%), seguido del acético (26,9%). Cuando se añaden AGV a un suelo estos pueden ser tóxicos para los patógenos parásitos de plantas de origen edáfico, sin embargo muchos de los microorganismos saprófagos los metabolizan rápidamente. Los AGV son consumidos en el suelos pocos días después de su aplicación, sobre todo debido a la degradación por los microorganismos (TENUTA *et al.* 2002). Por otro lado, **la descomposición anaerobia de la paja de trigo es fitotóxica** debido a la producción de ácido acético (LYNCH 1977, 1978). La acumulación de AGV es temporal, rompiéndose sus moléculas cuando se vuelve a las condiciones aeróbicas que ocurre antes de una semana, por lo que esta rápida degradación explica su ineficacia en algunas ocasiones (LAZAROVITS 2001).

La supresividad y la actividad fitotóxica del compost pueden estar relacionadas con su contenido en AGV. El compost con alto contenido en AGV inhibe la germinación de las semillas (DEVLEESCHAUWER *et al.* 1981), así como el crecimiento de *Brassica rapa* (CHANYASAK *et al.* 1983) y **puede explicar como el té de compost es eficaz en el control de enfermedades foliares** (KEENER *et al.* 2000).

La adición al suelo de enmiendas orgánicas puede dar lugar a cientos de reacciones químicas y biológicas que todavía no están bien estudiadas. Todas las sustancias que se producen en estas reacciones, como el amoníaco, ácido nitroso y acético se han usado con frecuencia en sanidad y en la conservación de alimentos de manera eficaz durante milenios (LAZAROVITS 2004). Pero **para que estas reacciones químicas y biológicas tengan éxito hay que conocer cuáles son las circunstancias que favorecen o entorpecen la supresión de las enfermedades de origen edáfico en los sistemas agrarios. El grupo del Profesor Lazarovits ha observado que con frecuencia aparecen inconsistencias en la eficacia en el control de las enfermedades de origen edáfico cuando se utilizan enmiendas de origen orgánico generalmente con alto contenido en nitrógeno. Estas inconsistencias están relacionadas con las propiedades que posee cada suelo.**

TENUTA & LAZAROVITS (2002b) estudian cuáles son las propiedades del suelo que afectan a la acumulación de amoníaco en el suelo, debido a que encontraron inconsistencias en los resultados obtenidos tras la aplicación en el suelo de enmiendas orgánicas ricas en nitrógeno. Para ello, trabajaron con dos tipos de suelo, uno arcillo-arenoso, ácido (pH = 5,4) con un contenido en materia orgánica bajo (1,2%) y uno arcilloso, básico (pH = 8,1) con contenido moderado en materia orgánica (2,1%). Como enmienda orgánica rica en nitrógeno utilizaron harina de carne y huesos. Observan que la capacidad de intercambio catiónico, el contenido en materia orgánica, la humedad, la densidad aparente, el contenido en arena y la nitrificación están asociadas con la acumulación de amoníaco en un suelo. La nitrificación, relacionada con el contenido en carbono orgánico, es el factor más determinante en la acumulación de amoníaco en el suelo, debido a la transformación de este a nitritos y nitratos. El contenido en arena también influye en la acumulación de amoníaco en el suelo, observando que en los suelos arenosos que tienen menor capacidad de campo el amonio se encuentra más concentrado en el agua, provocando un aumento del pH y su posterior transformación en amoníaco. Este aumento del pH y la acumulación de amoníaco, pueden además provocar la muerte de los organismos nitrificantes que no toleran ambas condiciones (GERARDS *et al.* 1998). Cuanto mayor es el contenido en carbono orgánico menor es la acumulación de amoníaco y mayor la formación nitrito y nitratos, debido también a que se producen tanto un descenso del pH como un incremento del contenido en humedad disminuyendo la concentración. Si se maneja la densidad aparente del suelo, aumentando la compactando el suelo, se incrementa la muerte de los microesclerocios, pero no está relacionada con la acumulación de compuestos nitrogenados, si no que se generan condiciones de anaerobiosis. Además, observan que la germinación de microesclerocios de *V. dahliae* disminuye en el suelo arcillo-arenoso según aumenta la concentración de la enmienda, siendo nula a los 7 días para la dosis del 2,5% (peso/peso) coincidiendo con la acumulación de amoníaco en el suelo.

Sin embargo en el suelo arcilloso la aplicación de la enmienda no afectó a la germinación de los microesclerocios, siendo la acumulación de amoníaco en este suelo menor que en el suelo arcillo-arenoso, sobre todo 5 días después de haber aplicado la enmienda. Además, observaron que en el suelo arcilloso, cuando comenzaba a disminuir la concentración de amoníaco, la concentración de nitrito y de nitrato era mayor. Para comprobar si la muerte de los microesclerocios se debía a la acumulación de amoníaco, al suelo que mejores resultados había obtenido tras el ensayo anterior le añadieron en distintas concentraciones un suelo *muck*, que tiene la materia orgánica sin descomponer, para aumentar el contenido en materia orgánica y le aplicaron la enmienda, observando que la germinación de microesclerocios disminuía cuando el suelo tenía menor porcentaje de carbono orgánico, mientras que se producía una acumulación de amoníaco, disminuyendo el contenido en nitritos y nitratos.

El factor más importante que afecta a la eficacia del control de las enfermedades es el pH del suelo, encontrando que sólo existen productos tóxicos que sean letales para los patógenos cuando el pH del suelo está por debajo de 6 o sobre 8. Después de conocer el modo de acción de la materia orgánica, se pueden establecer formulados para incrementar su eficacia o reducir su variabilidad. Para ello, se deben seleccionar las dosis de aplicación teniendo en cuenta las propiedades del suelo, modificando las características de la materia orgánica o el pH del suelo, mediante el manejo de la nitrificación y la materia orgánica, conociendo sus propiedades químicas, mejorando las condiciones de almacenaje de la materia orgánica, modificando su microbiología, y sobre todo optimizando el momento y tiempo de aplicación (LAZAROVITS 2004). Si se pretende la optimización del pH del suelo o de la materia orgánica para mejorar la eficacia en el control de plagas y enfermedades de origen edáfico, al añadir un agente alcalinizante, tal como “*lime-stabilised sewage sludge*” (lodos urbanos estabilizados con calcio) (1% peso/peso) con 2% de la harina de carne y huesos, probablemente mata a todos los microesclerocios de *V. dahliae* en un suelo franco donde el 4% harina de carne y huesos sólo tiene efecto marginal (TENUTA & LAZAROVITS 2002a). La actividad del residuo solo, no tiene efecto sobre la viabilidad de los microesclerocios. En los casos donde el pH alcanza los niveles de 10 y donde no se detecta el amoníaco, el alto valor del pH por si solo fue el causante de la muerte de los juveniles y huevos de los nematodos fitoparásitos *Heterodera glycines* y *Meloidogyne incognita* (ZASADA & TENUTA 2004). Por otro lado, cuando se añaden purines de cerdo a un suelo con pH bajo y con capacidad tampón pobre, la actividad de los AGV se reduce o se anula, puesto que los purines de cerdo tienen un pH entre 6,5-8,5. Por ello, para incrementar el rango de suelos donde pueden ser eficaces, se deben acidificar. El objetivo es bajar su pH entre 4-4,5 con el fin de que no aumente el pH del suelo. Para ello, es necesario conocer la capacidad tampón del suelo y utilizar un volumen de ácido pequeño, que varía entre 900-3800 l/ha. La mejor técnica fue aplicar primero la

cantidad de ácido necesaria al suelo, posteriormente los purines de cerdo y por última su mezcla. Esto permite además, evitar la espuma que forman los purines de cerdo cuando se mezclan con el ácido (LAZAROVITS 2004). Por otro lado, **se pueden incrementar los AGV contenidos en los purines de cerdo al añadir fuentes de carbono y reducir paralelamente su pH entre 8-5 mediante la inmovilización del exceso de amonio producido por la biomasa microbiana. Los AGV son fáciles de producir a través de mezclas de subproductos agrarios y forestales.** El olor producido se puede reducir mediante la inyección de los líquidos en el suelo. La adición de una fuente de carbono como puede ser la sacarosa a los purines de cerdo que tienen un pH de 8,5 y no tienen AGV, así como su posterior incubación durante tres semanas, da lugar a una concentración de AGV de 100 mM y una reducción del pH a 6,5 (LAZAROVITS 2004).

Las desinfecciones de suelos tanto químicas como no químicas, tienen el riesgo potencial de poder generar la supresividad de los patógenos en suelo mediante la modificación de la microflora del suelo. *V. dahliae* no puede crecer en un suelo no rizosférico porque es inhibido por las comunidades microbiológicas del suelo, pero puede colonizar con facilidad un suelo estéril (STOVER 1979). Desde el punto de vista del control biológico se observa que en los suelos tratados con purines de cerdo, se produce un gran incremento de las poblaciones de *Trichoderma*, y en algunos de los campos de patata afectados por sarna, ésta se controló sin producir una reducción aparente de *S. scabies* en el suelo. La adición de purines de cerdo al suelo tiene resultados variables en relación con el incremento de las poblaciones microbianas (CONN & LAZAROVITS 1999) y en particular de *Trichoderma*. Las emulsiones de pescado son un buen medio de cultivo para el crecimiento de rizobacterias promotoras del crecimiento (EL-TARAILY *et al.* 2003). Se están realizando experimentos con fuentes de carbono baratas para la producción de AGV mediante microorganismos (LAZAROVITS 2004). Es necesario incrementar la diversidad de los organismos del suelo mediante productos que utilizan la riqueza energética de los productos orgánicos (BAILEY & LAZAROVITS 2003).

Por otro lado, MATHRE *et al.* (1999) muestran que el incremento en la producción observado en los cultivos siguientes de una rotación, se debe al cambio de las poblaciones microbiológicas. Todo ello, indica que al añadir materia orgánica al suelo se incrementa su efecto sobre el saneamiento del suelo, pudiendo en algunos casos sustituir a la rotación de cultivos. Un análisis de las características de suelos, enfermedades y rendimientos en 100 campos de patatas comerciales, demuestran que los factores más relacionados con la reducción de las enfermedades y el incremento de rendimientos de tubérculos son la materia orgánica, el nitrógeno orgánico y la capacidad de disponibilidad de los nutrientes (DAVIS *et al.* 2001). Por

último, estos productos contribuyen a incrementar la fertilidad de los suelos y la diversidad microbiana (LAZAROVITS 2004).

Entre las limitaciones para el uso de la materia orgánica se destaca la disponibilidad y la falta de uniformidad en la calidad. Se ha observado que algunas gallinazas pueden perder con el tiempo su contenido en nitrógeno, así como su actividad supresiva. En Canadá es una práctica común alimentar a los cerdos con tubérculos infectados por sarna y aún no se conoce si la bacteria puede sobrevivir en el tracto digestivo del animal e introducirse en el campo a través del estiércol (LAZAROVITS 2001).

También es necesario conocer las **fuentes y almacenaje de la materia orgánica.** La calidad de la materia orgánica sólo se podrá establecer cuando se conozca su modo de acción. Sólo un 60% de los purines estudiados de diferentes fuentes tienen suficientes AGV para utilizarse como productos de control. Después de tres años de muestreo de los residuos de 15 granjas de cerdos se observó que los purines obtenidos de granjas de cebo tienen concentraciones de AGV cinco veces más altos que aquellos purines que provienen de granjas de madres. Esto se debe a que las deyecciones de las madres están más diluidas, puesto que se utiliza más agua en la limpieza. **El uso de materiales con una composición desconocida, es una de las razones de la gran variabilidad en la eficacia de control de las enfermedades** (CONN *et al.* 2007).

A su vez se necesitan conocer los métodos y época de aplicación. La principal limitación para el empleo de la materia orgánica es el momento ideal de aplicación dentro de la rotación para que haya una mayor eficacia en el control de las enfermedades. Todos los tratamientos realizados en primavera antes de comenzar el cultivo, son similares a los tratamientos en otoño, después del cultivo cuando el pH es más bajo. Las condiciones ambientales de la estación de invierno pueden acelerar la muerte del inóculo dañado anteriormente (LAZAROVITS 2004).

Muchos productos orgánicos no sólo necesitan ser aplicados a dosis altas, sino que además necesitan aplicarse de modo uniforme. Tal vez la aplicación de dosis más bajas, con mayor frecuencia podrían ser más eficaces para la reducción de las enfermedades. Esto se observó con algunos productores de patata quienes aplican entre 12-24 t/ha de gallinaza cada otoño. Esto aumenta los costes de aplicación puesto que la mano de obra puede ser excesiva, pero si las condiciones de supresividad se pueden crear en un campo, el coste económico merecería la pena (LAZAROVITS 2004).

Para incrementar el uso de residuos agrarios y forestales, se necesita un cambio de aptitud sobre la naturaleza de estos productos. Se debe tener en cuenta que estas materias orgánicas son una fuente de energía que se pueden utilizar (LAZAROVITS 2001). EDWARDS & SOMESWAR (2000) señalan que en EE UU se generan anualmente cerca de un billón de toneladas de coproductos orgánicos e inorgánicos de origen agrario y reciclables en forma de restos de cosecha (400 millones de t), estiércol de vacuno (50 millones de t), gallinaza y purines de cerdo (30 millones de t), residuos sólidos municipales (150 millones de t) y subproductos de la industria del papel (10 millones de t). Si las investigaciones consiguen dar un valor añadido a estos productos, estos se podrán reciclar en agricultura con grandes beneficios potenciales (LAZAROVITS 2004).

La adopción generalizada del uso de materia orgánica debe de estar acompañada por la creación de un mercado de demanda y un mejor tratamiento de los productos. Muy pocos productores de residuos animales tratan de minimizar las pérdidas de nitrógeno. **La gallinaza es mejor si se retira de las granjas inmediatamente después del ciclo de producción, puesto que los restos húmedos pueden ser más eficaces en el control de plagas y enfermedades de plantas.** Se necesita implementar la tecnología para la aplicación de materia orgánica en un suelo, pero para ello es necesaria la demanda del mercado. La utilización de residuos líquidos se puede incrementar cuando estos se puedan añadir en las líneas de siembra mediante inyección o mediante el sistema de riego (LAZAROVITS 2004).

Con los conocimientos y la innovación, el nicho económico para el uso de materia orgánica en el manejo de plagas y enfermedades de origen edáfico estará en crecimiento continuo. Numerosos informes indican que la combinación de tecnologías como la solarización con la materia orgánica produce un control superior a otros tratamientos, sin olvidarnos de que esto aumenta los costes. **Se necesita con urgencia transformar los restos orgánicos para que puedan ser productos de consistencia y eficacia que estimulen a los productores para que adopten estas técnicas o prácticas** (LAZAROVITS 2004).

2.1.4. Biodesinfestación

El Methyl Bromide Technical Options Committee (MBTOC 2007) al revisar las alternativas no químicas al bromuro de metilo (BM), introduce, en el subapartado de tecnologías para fincas pequeñas, el nuevo término de “**biodesinfestación**” (“*biodesinfestation*”), refiriéndose a las enmiendas orgánicas y cultivos que son capaces de liberar gases tóxicos durante su descomposición en el suelo, equiparándolo a la “**biofumigación**” (**biofumigation**). Señala que el término biofumigación se viene aplicando al control de enfermedades, nematodos y

plantas arvenses donde los gases tóxicos liberados durante los procesos de descomposición de la materia orgánica, las raíces y tejidos de las plantas. Considera que la incorporación al suelo de algunas especies de brasicas o compuestas da lugar a la emisión de una serie de compuestos volátiles, principalmente isotiocianatos, que tiene propiedades fungicidas, herbicidas, insecticidas y nematocidas (GAMLIEL & STAPLETON 1993, BELLO 1998, KIRKEGARD & SAWAR 1998). En la mayoría de los casos, la aplicación de tales materias orgánicas da lugar a un incremento enorme de las poblaciones de microorganismos del suelo, reduciéndose significativamente las poblaciones de organismos patógenos. En este sentido su efecto o acción es muy diferente al de los fumigantes de amplio espectro como el BM, que prácticamente eliminan a todas las poblaciones de microorganismos del suelo.

Se considera que no se conocen con claridad los procesos que regulan el efecto selectivo o de biodesinfección producido por la materia orgánica, por lo cual es preferible el término **biodesinfección de suelos** al de biofumigación, que sólo se fundamenta en el efecto de los gases. Se señala que desde el informe del MBTOC (2002) se ha realizado una gran cantidad de investigación para mejorar la eficacia de la biodesinfección y comprender mejor la acción de los diferentes subproductos liberados en la descomposición de las enmiendas orgánicas (BELLO *et al.* 2002, GARCÍA-ÁLVAREZ *et al.* 2004a,b).

La eficacia de la biodesinfección se puede incrementar mediante la utilización de plásticos u otro tipo de cubiertas de suelo que sean capaces de aumentar su temperatura y de retener los compuestos volátiles que se producen. La biodesinfección cuando se combina con la solarización reduce considerablemente el tiempo necesario para el control de los patógenos, con respecto a cuando se utiliza solarización sola. La combinación de la biodesinfección (biofumigación) y la solarización (biosolarización) se ha utilizado de modo eficaz en los cultivos de melones, pimientos, plátanos, tomates, otras hortalizas y viñedos (BELLO 1998, SANZ *et al.* 1998, BELLO *et al.* 2004a, GÓMEZ SORIANO *et al.* 2006).

El MBTOC (2007) considera también que la biodesinfección es una parte de la eficacia en control de patógenos de vegetales de suelos cultivados con efectos supresivos (“*pest suppressive crops*”), cuando forman parte de los sistemas de rotación de cultivos o como cubiertas vegetales, que se han venido usando como una importante práctica no química de control. Entre los abonos verdes se incluyen *Avena sativa* (avena), *Sorghum bicolor* (sorgo), *Crotalaria spectabilis* (crotalaria), *C. juncea* (crotalaria), *Mucuna pruriens* (mucuna), *Ricinus communis* (ricino) y algunas gramíneas, que son conocidas por ser supresoras de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Se considera que el uso de las cubiertas vegetales en el control de nematodos puede ser menos eficaz que la solarización o que la

fumigación química, pero se puede mejorar su eficacia cuando se combina con otras alternativas como puede ser el uso de cultivares resistentes en cultivos hortícolas (ELBERSON *et al.* 1997, MCSORLEY 1998, 2000, SUBBARAO 2001, MCSORLEY *et al.* 2006).

En el informe de MBTOC (2007) se recoge el caso de Costa Rica, donde se han obtenido resultados muy prometedores utilizando *Mucuna* spp. en parcelas experimentales. Esta alternativa es eficaz en el control de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* y de las plantas arvenses del género *Cyperus* spp. pero indica que no es adecuado en sistemas de cultivos plurianuales o perennes como es el caso de la flor cortada (CHAVERRI & GADEA 2001). La rotación de cultivos y las cubiertas vegetales son más eficaces en el control de organismos de origen edáfico que causan enfermedades en los vegetales cuando forman parte de un sistema de manejo integrado (IPM) (ELBERSON *et al.* 1997, MCSORLEY 2000, ABDUL-BAKI *et al.* 2004). Se destacan los trabajos de ABDUL-BAKI *et al.* (2004) que consideran como una alternativa al BM, la combinación de tomates portadores del gen *Mi*, resistentes a los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, combinados con el uso de abonos verdes de leguminosas que no son huéspedes de estos nematodos. Los abonos verdes utilizados incluían *Mucuna prurens* var. *utilis* (velvetbean), *Vigna unguiculata* cv “Iron Clay” (cowpea), *Crotalaria juncea* var. “Tropic Sun” (sun hemp). Los abonos verdes se sembraron en junio en bancadas, se segaron a principios de agosto dejando la cosecha sobre la superficie y se volvieron a segar otra vez en octubre. Después de la siega de octubre se incorporan los restos vegetales al suelo. La producción de tomates comerciables cultivados después de *Mucuna prurens* var. *utilis*, *Vigna unguiculata* cv “Iron Clay” fue comparable con el BM, pero la obtenida después de *Crotalaria juncea* var. “Tropic Sun” fue inferior. Estos tratamientos tienen un coste inferior de 1544 \$/ha con respecto al BM y una reducción de 130 \$/ha en fertilizantes nitrogenados, aparte de otros beneficios ambientales a largo plazo obtenidas por este sistema.

Sin embargo, en el mismo informe del MBTOC (2007) se recoge como otra alternativa al BM el uso de **enmiendas orgánicas, abonos verdes y compost**, sin atribuirles en este caso ningún efecto “biodesinfestante”, considerando que en la actualidad no son una alternativa directa al uso de BM, pero que a largo plazo pueden reducir las poblaciones de los patógenos de los vegetales de origen edáfico, debido a las alteraciones que se producen en las poblaciones de microorganismos del suelo y al desarrollo de “suelos supresivos”. Con este argumento proponen la utilización de enmiendas orgánicas, abonos verdes y compost, como una alternativa a largo plazo al uso de fumigantes químicos. El conocimiento de los mecanismos por los que la materia orgánica controla las poblaciones de organismos patógenos y qué factores del suelo están relacionados con su eficacia, debe de ser la primera fase para

desarrollar el uso de la materia orgánica como alternativa de control (CONN & LAZAROVITS 2000, TENUTA & LAZAROVITS 2002a,b, OZORES-HAMPTON *et al.* 2005). En una primera parte toma como referencia los trabajos realizados por el grupo del Profesor LAZAROVITS en los cuales considera que los principales mecanismos por los cuales la materia orgánica reduce las poblaciones de patógenos es de naturaleza química (LAZAROVITS 2004, LAZAROVITS *et al.* 2005). Los AGV y la producción de compuestos nitrogenados tóxicos son los principales responsables del control (LAZAROVITS 2004, LAZAROVITS *et al.* 2005). Además señalan que el uso de abonos verdes que no son supresivos de enfermedades. ZHOU & EVERTS (2004) estudian el efecto de la incorporación de *Vicia villosa* al suelo para la supresión de la fusariosis en sandía causada por *F. oxysporum* f.sp. *niveum*. Encontraron que cuando se mezclan del 1 al 5% (peso/peso) *V. villosa* seca (seca o deshidratada), caparazones de cangrejo y urea en un suelo franco arenoso que estaba infestado de modo natural o artificialmente por *F. oxysporum* f.sp. *niveum* raza 2, se obtiene la máxima supresión de la fusariosis (53 a 87% de reducción) en semilleros de sandía. Cuando se añade *V. villosa* al 0,25% ó 0,50% (peso/peso) en microparcels se reduce entre 54-68% la incidencia de la enfermedad y se incrementa la producción de biomasa de las plantas de sandía del 100 al 220%. Las cubiertas de invierno de *V. villosa* cuando se incorpora en parcelas de campo cubiertas con una lámina de plástico negro, producen una reducción entre 42-48% de la incidencia de la enfermedad y un incremento de la biomasa de la planta entre 64-100% y del 34 al 48% en el peso de la fruta, cuando se compara con tratamientos de BM o de 1,3-D Pic (C 35) respectivamente. La incorporación de *V. villosa* también produce un incremento en los azúcares de la fruta de sandía entre 10-15%. Sin embargo no se observaron reducciones estadísticamente significativas de las poblaciones de *F. oxysporum* f.sp. *niveum* raza 2, tanto en las microparcels como en los experimentos de campo, pero si que se observó cuando se añade al 5% (peso/peso) en el suelo de macetas en invernadero, lo cual se atribuye al incremento de los niveles de amonio con acción fungicida producido durante la descomposición. Se considera que la incorporación de *V. villosa* en suelo cubierto, puede ser una alternativa o un complemento al uso de cultivos resistentes en un sistema de rotación para el manejo de las enfermedades causadas por *Fusarium* en sandía. LÓPEZ-PÉREZ *et al.* (2003a,b) estudiaron el efecto de diferentes técnicas agronómicas para el control de *Meloidogyne incognita* en el cultivo de pepino en rotación con acelga en cultivo protegido (invernadero) en España (Villa del Prado, Madrid). En el trabajo comparan tres tratamientos: uso de compost de champiñón agotado, metam sodio y BM. Se observó que el compost de champiñón era eficaz en el control de *M. incognita*, con una eficacia similar a la que se obtiene con metam sodio y BM. Por otro lado el compost de champiñón produjo un incremento de las poblaciones de nematodos omnívoros y depredadores, que sin embargo se redujeron drásticamente con el BM. La producción de pepino fue similar en los tratamientos

con compost de champiñón y BM, con un coste más bajo donde se aplicó el compost de champiñón.

Otro aspecto relacionado con la supresión de patógenos son los **cultivos supresivos** como los *Tagetes* spp. que son eficaces en el manejo de nematodos endoparásitos, como las especies del género *Meloidogyne* y *Pratylenchus penetrans*. La supresión de nematodos por los tagetes se debe a que contiene compuestos derivados del tiofeno y las moléculas heterocíclicas de sulfuro, que son abundantes en estas plantas. Cuando se activa el tiofeno se producen radicales de oxígeno. Las raíces de tagetes producen este agente biocida, que es activado en el suelo mediante las poblaciones de microorganismos que hay en la rizosfera de la planta (TOPP *et al.* 1998). Sin embargo los tagetes no tienen ni efecto fungicida ni herbicida, por lo que su uso es considerado como una desinfección selectiva. La utilización de tagetes como cultivo supresivo se viene realizando en varios países para determinados cultivos, aunque por su selectividad no se puede considerar por ahora como una alternativa al uso de BM (BELL *et al.* 1998). Por el contrario, los tagetes son eficaces en la reducción del uso de BM cuando se integran en una rotación de cultivos para el control de nematodos. Las poblaciones de nematodos se reducen por debajo del umbral económico y el rendimiento del cultivo aumenta después del cultivo de tagetes (REYNOLDS *et al.* 2000). *Tagetes erecta*, *T. minuta* y *T. patula* se utilizan con frecuencia para el control de *Meloidogyne* en los cultivos de tomate, cucurbitáceas y otras hortalizas en Marruecos y en otros países, observándose que la reducción de las poblaciones de nematodos mediante *T. erecta* fue eficaz en Marruecos cuando forman parte de una rotación con otras hortalizas (LUNG 1997, SIDDIQUI & MASHKOOR 1998).

OKA (2010) hace una excelente revisión de los mecanismos relacionados con la supresión de organismos del suelo patógenos de vegetales, mediante la aplicación de gran variedad de materiales de origen orgánico, tales como abonos verdes y de origen animal, compost, plantas con efecto nematicida, materiales de origen proteico y otros, señalando que la eficacia en el control de nematodos no es siempre satisfactorio. Plantea que los mecanismos de control son muy complejos, destacando los aspectos siguientes: 1. existencia de compuestos con efecto nematicida en los materiales aplicados al suelo; 2. generación de compuestos nematicidas, tales como amoníaco y ácidos grasos, durante los procesos de descomposición; 3. incremento e introducción de microorganismos antagonistas; 4. inducción de tolerancia y resistencia a patógenos en la planta; 5. cambios en las características del suelo que actúan con efecto negativo sobre el comportamiento de patógenos, todos estos mecanismos pueden actuar de modo combinado para producir a través de materiales de origen orgánico su efecto supresor sobre nematodos. Se resalta el interés de evaluar no sólo su eficacia sino también la seguridad

de los materiales de origen orgánico seleccionados, siendo necesario que se realicen, junto a las investigaciones multidisciplinarias que propone el autor, como aspectos fitoquímicos, microbiológicos del suelo, química y ecología, así como sobre los conocimientos en nematodos del suelo. En el trabajo se incluye, además, una excelente revisión bibliográfica, destacando las aportaciones recientes sobre el control de *Pratylenchus* (MAHRAN *et al.* 2008); el potencial antagonista de las bacterias endofíticas en café para el control de *M. incognita* (MEKETE *et al.* 2009); efecto de la hidrólisis de los glucosinolatos en el control de *Pieris rapae* (MUMN *et al.* 2008); control de *M. javanica* con *Trichoderma harzianum* (SAHELANI & HADAVI 2008); el valor de los hongos endofíticos en la supresión de nematodos parásitos de plantas (SIKORA *et al.* 2008); efecto de la materia orgánica en el incremento de hongos nematófagos (WACHIRA *et al.* 2009); potencial de los purines de cerdo en el control de nematodos de la soja (XIAO *et al.* 2007); pero sobre todo la necesidad de tener muy en cuenta los riesgos de salinización de los suelos por la aplicación reiterada de materia orgánica (YAO *et al.* 2007). Además se debe señalar que es imprescindible el establecimiento de bases agronómicas para la utilización de estos materiales orgánicos en biodesinfección de suelos, que ha sido el objetivo fundamental de nuestro trabajo (DÍEZ-ROJO 2006, 2010, DÍEZ-ROJO *et al.* 2006, 2008a,b,c, 2009).

Si en un futuro se llegara a conocer cómo actúa la materia orgánica en la supervivencia de los patógenos en el suelo será posible mejorar su eficacia en la mayoría de los tipos de suelos (LAZAROVITS 2004).

2.1.5. Agentes de control biológico

Se ha demostrado que los agentes de control biológicos son eficaces en el control de determinadas especies de plantas adventicias, plantas parásitas y de organismos del suelo patógenos de vegetales (MONTEALEGRE *et al.* 2005, MENNAN *et al.* 2006). Entre los agentes de control biológico de enfermedades de las raíces de las plantas hay bacterias, hongos y otros organismos no patógenos que compiten por el espacio y por los nutrientes, o son antagonistas de los organismos patógenos del rizoplano, rizosfera o del interior de las raíces. En ciertos casos ellos actúan como protectores de las raíces de las infecciones de otros patógenos.

Los nematodos entomopatógenos son considerados buenos agentes de control de insectos (CASTILLO & MARBÁN-MENDOZA 1996) y nematodos (LÓPEZ-ROBLES *et al.* 1997). La bacteria *Pasteuria penetrans* es efectiva en el control de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* spp. en pepino y otros cultivos (TZORTZAKAKIS & GOWEN 1994, STIRLING *et al.* 1995, ROJAS & MARBÁN-MENDOZA 1999). El hongo nematófago *Pochonia*

chlamydosporia infecta y destruye los huevos de nematodos formadores de nódulos, este hongo está relacionado con el desarrollo de supresividad a nematodos en los suelos (KERRY & HIDALGO-DÍAZ 2006). Especies de *Fusarium* patógenas y antagonistas mostraron eficacia frente *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* y *F. oxysporum* f.sp. *gladioli* por lo que se están utilizando de manera comercial (POSTMA & RATTINK 1992, GULLINO 1995, MINUTO *et al.* 1995). Los compost enriquecidos con organismos beneficiosos como *Trichoderma* proporcionan un control eficaz de hongos como *Phoma* o *Pythium* en cultivos de flor cortada y en la producción de bulbos (PIZANO 2004a,b). En Costa Rica se considera que los agentes de control biológico son una alternativa complementaria muy prometedora al uso de BM en melón y flor cortada (ABARCA 2006). *Muscodor albus*, un hongo que produce compuestos volátiles biocidas, se está utilizando para el control de hongos patógenos del suelo de los vegetales (GRIMME & ZIDACK 2007).

Los campos de patatas tratados con lignosulfato de amonio, un coproducto de la industria del papel, reducen la incidencia de *Verticillium* y de la sarna de la patata (*Streptomyces scabies*), no siendo tóxico para los microesclerocios de *V. dahliae* (SOLTANI *et al.* 2002) ni a *S. scabies*. En estos suelos las poblaciones totales son más altas que en los no tratados, especialmente hongos (SOLTANI *et al.* 2002). Los microesclerocios extraídos después del tratamiento del suelo forman colonias mucho más pequeñas. Esto no se observó en los microesclerocios de las parcelas no tratadas. Por ello, el incremento de las poblaciones de hongos que actúan como competidores o como agentes de control biológico puede ser un mecanismo por el cual el lignosulfato reduce la aparición de la verticiliosis.

Las emulsiones de pescado tampoco parecen tener un efecto tóxico directo sobre los patógenos, sino que crean un ambiente biológico que es supresivo para el inicio de la enfermedad. El incremento de la eficacia al control de la enfermedad con el tiempo parece que se corresponde con un incremento de la actividad biológica en el suelo. Las poblaciones de hongos y bacterias se incrementan a niveles máximos siete días después de la incorporación de las emulsiones de pescado, coincidiendo con el inicio de la supresión de la enfermedad. Hipótesis que se debe demostrar con estudios posteriores. Si el control es biológico, cuando se introducen organismos de interés dentro de la emulsión de pescado debería ser altamente viable para emplear estos productos (ABBASI *et al.* 2004).

La adición de purines de cerdo al suelo tiene resultados variables en relación con el incremento de las poblaciones microbianas y en particular de *Trichoderma*. Por ello, mientras que los AGV, ácido nitroso o amonio, originados de los purines de cerdos pueden reducir las poblaciones de patógenos, algunos de los efectos de control a largo plazo pueden derivar de la

actividad de los microorganismos. Si bien las concentraciones de AGV equivalentes a las de los purines de cerdos son letales para los microesclerocios y reducen la sarna de la patata en el primer año de la aplicación, sólo los purines de cerdos reducen los niveles de la enfermedad el segundo año (CONN & LAZAROVITS 1999).

2.1.6. Suelos supresivos

Una de las observaciones más conocidas sobre control biológico es la de los “suelos supresivos” en los cuales el desarrollo y la actividad de los patógenos es mínima, si se compara con la de los “suelos conductivos”, donde el microorganismo causante de la enfermedad tiene todas las ventajas para parasitar la planta (CHET & BAKER 1980, CHET 1987). Aunque la supresividad se debe a muchas interacciones, se considera que su naturaleza se fundamenta en la diversidad biológica y es más común en suelos con pH entre 6-8. Esta característica se puede inducir en suelos conductivos, al agregar pequeñas cantidades del suelo supresivo, o al hacer uso de enmiendas orgánicas (COOK & BAKER 1983, HOITINK & BOEHM 1999).

El término suelos supresivos (supresivos de enfermedades) "disease suppressiveness" se utiliza comúnmente para designar suelos agrícolas o sustratos, donde no aparecen, o su aparición es de grado bajo, algunas enfermedades específicas producidas por organismos del suelo, cuando se introduce el patógenos de modo natural o artificial (COOK & BAKER 1983). Se conocen dos tipos diferentes de supresión de enfermedades: natural o inducida. La supresividad natural se relaciona principalmente con las propiedades físicas del suelo y es relativamente independiente de la sucesión de cultivos. La supresividad inducida depende totalmente de las prácticas de cultivo. El aislamiento, identificación y cultivo de microorganismos antagonistas, responsables de la supresividad en los suelos, permitirá en el futuro controlar las enfermedades de las plantas mediante su adición en un suelo o sustrato conductivo (*conducive soils*: suelos sobre los que se desarrolla bien una enfermedad). La supresividad de los suelos a determinados patógenos puede ser de tal naturaleza que el patógeno no se pueda establecer o si se establece no se desarrolla la enfermedad o puede causar enfermedad al principio del cultivo pero disminuye con sucesivos cultivos (COOK & BAKER 1983).

La supresividad de los suelos a *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola*, etc. se ha observado en distintas regiones agrarias del mundo (SCHNEIDER 1982, COOK & BAKER 1983, HARRISON & LOUWS 1999). Las enfermedades de suelo se desarrollan bien en algunos suelos (“suelos conductivos”), mientras

que en otros suelos no puede desarrollarse o tienen una severidad mucho más baja (“suelos supresivos”). Las enfermedades causadas por *Fusarium* spp. en varios cultivos hortícolas, palmera datilera, podrían ser eliminadas o manejadas con los suelos supresivos (ALABOUVETTE 2000).

En algunos suelos supresivos la enfermedad no se expresa aunque el inóculo sea introducido. Se ha demostrado que la fungistasis inactiva el inóculo. Este fenómeno tiene origen biológico, como la desinfección supresiva (“*disinfection suppresses*”). Según algunos autores, la resistencia del suelo a las enfermedades vasculares causadas por *Fusarium* se deben a la presencia de *Fusarium* saprófagos, en particular *F. oxysporum* y *F. solani*. Estos hongos, que tienen una ecología similar, son los responsables de la fungistasis, porque inhiben la germinación de las clamidosporas de las formas patógenas. Cuando se introducen en un suelo virgen *Fusarium* saprófitos reproducen los efectos de la supresividad a gran escala. Así la resistencia a *F. oxysporum* se ha transmitido de un modo eficaz en los cultivos de clavel, melón, tomate y ciclamen. La introducción entre 10-20% de volumen de un suelo resistente a un sustrato proporciona una protección estable, mucho mayor que si se compara con tratamientos químicos y tiene una ausencia de especificidad en suelos mezclados. La transferencia de suelos resistentes de una región a otra y el uso de las fuentes naturales de antagonistas ha sido un éxito en la producción de cultivos en maceta, obteniéndose altos rendimientos, como por ejemplo en la producción de clavel en el sur de Francia (GARIBALDI 1984, ALABOUVETTE 2000, WELLER 2007).

La resistencia de algunos suelos a otros patógenos como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia scleroti* y *Sclerotium rolfsii* se debe posiblemente a *Trichoderma harzianum*. En otros casos la resistencia se debe a bacterias y actinomicetos (WELLER 2007). Por ello es necesario que se potencien las investigaciones y la transferencia de tecnología para poder desarrollar el manejo del suelo y los sistemas de cultivo que den lugar a una resistencia intrínseca de los suelos. Los suelos supresivos son un buen reservorio de agentes potenciales de control biológico, y de ellos se han aislado varias cepas de hongos y bacterias antagonistas. Sin embargo para que la aplicación de los agentes de biocontrol tenga éxito, es necesario conocer no sólo su medio de acción, sino también las condiciones ambientales que se requieren para que se establezcan y se expresen sus actividades antagonistas. No conviene olvidar que según la legislación europea, los agentes de control biológico se tienen que registrar como pesticidas químicos, por lo que se deben evaluar, además de su eficacia, sus riesgos toxicológicos en relación con los seres humanos, animales y medioambiente (MBTOC 2007).

2.2. BIODESINFECCIÓN Y SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES

Desde la “revolución verde”, se empezó a realizar una agricultura más especializada y más tecnificada, que necesitó incorporar de forma creciente fertilizantes, productos fitosanitarios y material vegetal mejorado genéticamente. Como consecuencia, se produjo un aumento de los rendimientos tanto desde el punto de vista productivo como del económico y a su vez cuando la agricultura no se realiza de forma racional y con criterios agronómicos, conlleva un deterioro del agrosistema y de su entorno que acarrea efectos de pérdida de fertilidad, erosión y compactación de suelos, contaminación y deficiencias en el abastecimiento de agua, etc. Este deterioro se tradujo en una pérdida de la productividad, del rendimiento económico y se crearon en muchas áreas problemas sociales. Esto tuvo como consecuencia el tratar de buscar y encontrar “nuevas formas de agricultura”, integradas con un enfoque multidisciplinar, holístico, que incorpore las perspectivas socio-económicas y técnicas, con el diseño, manejo y evolución del sistema productivo (BRUNDTLAND & KHALID 1987). La FAO, entonces propone *“Agricultura sostenible es el manejo y conservación de los recursos naturales y la orientación de cambios tecnológicos e institucionales encauzados a asegurar la satisfacción de las necesidades humanas en forma continuada, para las generaciones presentes y futuras. Tal desarrollo sostenible conserva el suelo, el agua, los recursos genéticos animales y vegetales, no degrada el medio ambiente, es técnicamente apropiada, económicamente viable y socialmente aceptable”* (FAO 1992, citado en VON DER WEID 1994).

La búsqueda de la sostenibilidad incluye, entre otras prácticas, la de minimizar la utilización de insumos mediante el control integrado de plagas y enfermedades empleando productos de bajo poder contaminante, la utilización de enmiendas orgánicas, etc... reconociendo, a su vez, que dichos insumos, pueden ser productos generados por la actividad del mismo sistema. Su objetivo último será desarrollar sistemas biológicos eficientes, que mantengan la capacidad de alto rendimiento y no requieran elevados niveles de «inputs» externos (JIMÉNEZ HERRERO 1996). Además, la imperiosa necesidad de preservar el medio ambiente, junto a las tendencias actuales, científicas, tecnológicas, económicas, sociales y ambientales, son la causa de que se reconsideren las prácticas agrícolas tradicionales y se busquen alternativas de mayor eficacia, con menor impacto en el ambiente (LÓPEZ-GÁLVEZ & PEIL 2000). El término “sostenible” implica una dimensión temporal y la capacidad de un sistema de permanecer y durar indefinidamente. PORTER *et al.* (2008) señalan que el mundo agrario está preparado para la realización de prácticas agrarias sostenibles para el manejo de patógenos de los vegetales del suelo y para adoptar prácticas que conserven la biodiversidad y su función en la regulación de los equilibrios biológicos, destacando que en realidad esto no está ocurriendo. **Entre las**

técnicas, que pueden servir de referencia para el desarrollo de un modelo de protección de cultivos fundamentado en prácticas más sustentables que utilicen principios para una reducción de modo natural de los organismos patógenos, está la biofumigación, o de un modo más amplio, la biodesinfección de suelos.

La agroecología se sustenta en una visión más completa de los procesos naturales implicados en la producción agrícola, armoniza los ciclos de producción naturales y las interacciones biológicas de manera más eficiente que los métodos agrícolas convencionales. Como principio, trata de integrar los aspectos positivos de la interacción biológica entre ambiente, suelo y planta cultivada.

La protección de cultivos se plantea, por lo general, como una **guerra contra los enemigos** que atacan a los cultivos, por ello el **patógeno** debe ser eliminado, a través del **uso de estrategias** como el despliegue espacial y temporal de agroquímicos y agentes de control biológico, así como los genes de resistencia de las plantas cultivadas. El uso de la materia orgánica en el control de los patógenos se enfoca sólo por el incremento de la actividad y diversidad microbiana del suelo, siendo ellos los responsables de que se produzcan todos los procesos que realizan la supresión de las enfermedades. En el componente edáfico, uno de los factores limitantes para la producción es la proliferación de organismos patógenos que pueden producir plagas y enfermedades. En agricultura convencional se ha resuelto el problema durante los últimos años mediante la aplicación de fumigantes del suelo como el BM, cuya eficacia en el control de los organismos del suelo, tanto parásitos como beneficiosos, es tal que puede reducir a niveles mínimos la biodiversidad edáfica tras su aplicación. A su efecto letal sobre las poblaciones del suelo hay que añadir que se trata de un compuesto que contribuye significativamente a destruir la capa de ozono estratosférica (BELLO 1998).

Uno de los retos de la agroecología es el convertir y revalorizar los residuos que genera la actividad productiva (estiércol, restos de cosecha, residuos agroindustriales, etc.) en recursos que contribuyan a una mejora de los suelos, permitiendo una reducción del consumo energético en los agrosistemas (GUZMÁN-CASADO *et al.* 1999). El mejor ejemplo para entender lo que los principios ecológicos significan en la gestión de los sistemas agrarios lo podemos encontrar en la búsqueda de alternativas a los fumigantes del suelo como el BM (BELLO 1998). El siguiente principio agroecológico es el **utilizar recursos locales**, puesto que el principal factor limitante de la biodesinfección son los gastos de transporte. Los recursos locales como biodesinfectantes se deben referir en primer lugar al uso de materiales nitrogenados como son los **estiércoles de origen animal**, especialmente en sistemas agrarios, donde el ganado es un elemento más del sistema, introduciendo el principio de

complementariedad, resultado de la armonización de los sistemas agrarios y ganaderos. Las otras alternativas son el empleo de **abonos verdes**, que no está sólo restringido a las brasicas, sino que se puede aplicar en la mayoría de las especies vegetales y restos agrarios. En este último caso se puede tener un complemento al valor comercial del producto, utilizando dichos restos como biofumigantes. Por último, están los **residuos agroindustriales** e incluso urbanos, que se han mostrado eficaces como biofumigantes. **Se consigue con ello que la agricultura, en lugar de ser una actividad que origina contaminación, sea una vía para resolver problemas de impacto ambiental** (BELLO *et al.* 2008a).

Se comenzó por demostrar, en condiciones de laboratorio, la eficacia de los materiales que serán utilizados como biodesinfectantes, observando que muchos de ellos tienen efecto biostático (DÍEZ-ROJO 2006). Las sustancias generadas durante la degradación de la materia orgánica su gran mayoría son de origen químico (LAZAROVITS 2004). Estas sustancias se pueden producir en el suelo mediante una fermentación *in situ*, que puede estar asociada a fenómenos de anaerobiosis (BLOK *et al.* 2000, GOUD *et al.* 2004), especialmente cuando la relación C/N está comprendida entre 8-20. Dichas sustancias pueden regular las poblaciones de organismos patógenos, e incrementar las poblaciones de saprófagos y la fertilidad del suelo, con una repercusión positiva en la nutrición de las plantas (GARRABOU & NAREDO 1996). Este método de control había sido desarrollado por KIRKEGAARD *et al.* (1993a,b, 1994) y ANGUS *et al.* (1994), aplicándolo exclusivamente a la obtención de isotiocianatos durante la descomposición de restos de brasicas, **por ello era necesario demostrar que el concepto de la biofumigación se puede aplicar a cualquier fracción orgánica en general, estando su eficacia limitada sólo por la dosis y el método de aplicación** (BELLO *et al.* 2003, LAZAROVITS *et al.* 2005, ROUBTSOVA *et al.* 2007).

Posteriormente era necesario establecer la dosis de biodesinfectante, determinando que en una primera fase, cuando los problemas son graves puede alcanzar las 100 t/ha; una vez reguladas las poblaciones de patógenos se puede reducir a 50 t/ha, e incluso a dosis inferiores si se aplican en bandas, o se incrementa la actividad de la materia orgánica (LACASA *et al.* 2002, BELLO *et al.* 2004a). Por el efecto biostático de las sustancias producidas en la biodesinfección, era necesario retenerlos en el suelo para prolongar su efecto sobre los organismos patógenos, periodo que se recomienda sea al menos de dos semanas. En los primeros ensayos se han utilizado plásticos, pero ello supone un coste adicional bastante elevado y el correspondiente impacto ambiental, además no se pueden utilizar en agricultura extensiva. Por otro lado, la aplicación de plásticos llega a confundir la biofumigación con la solarización, olvidándose de que la solarización depende de la temperatura, por lo que sólo se puede aplicar en determinadas épocas y en países con alta radiación solar (KATAN & DE VAY

1991), no siendo eficaz en el control de organismos móviles como nematodos, ni en agricultura extensiva por los altos coste del plástico y la duración del tratamiento (BELLO *et al.* 2003).

Como alternativas al empleo de plásticos, se observó que estos no eran necesarios en suelos poco profundos (< 30 cm). Posteriormente encontramos que el riego abundante y frecuente, además de retener los gases desprendidos durante la descomposición de la materia orgánica, prolonga los fenómenos de fermentación, con lo que se incrementa la eficacia de la biofumigación. Se ha encontrado también que en los suelos con alto contenido de limo y arcilla se pueden formar costras superficiales, que permiten la retención de gases. Por todo ello, se puede aplicar la biodesinfección sin la utilización de plásticos, facilitando su aplicación en los sistemas de cultivos extensivos y diferenciándose claramente de la solarización. En el caso concreto de Almería, la biofumigación es uno de los procesos claves que determinan la eficacia de los cultivos **enarenados**, que utilizan los recursos locales, regulan el agua de riego y, al poner materia orgánica entre la capa de arcilla y la de arena, actúa como biofumigante, pudiéndose complementar con la solarización (BELLO 1998, TELLO 2000). Esto viene a ilustrar que **no se debe depender de “recetas generales en agricultura”, y que en cada comarca o cultivo se deben diseñar alternativas específicas para mantener la capacidad de autorregulación de los agrosistemas** (BELLO *et al.* 2003). La aplicación de criterios ecológicos ha permitido encontrar alternativas al BM, contribuyendo a resolver uno de los problemas más graves de impacto ambiental producido por la aplicación de técnicas agrícolas, como es la destrucción de la capa de ozono y el incremento de la contaminación ambiental por pesticidas. Al mismo tiempo se incrementa la rentabilidad de los cultivos al reducir los gastos por agroquímicos.

2.3. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS EN ESPAÑA

España estimó el consumo de BM para usos agrícolas en 1995 en 4.238,56 t, según encuesta efectuada entre las Comunidades Autónomas por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (NOVAL ALONSO 2004). A partir de esta fecha estas cantidades disminuyeron, tanto en lo relativo a los tipos de cultivos para los que se utiliza el BM, áreas geográficas en las que se practica la fumigación con BM, como en las cantidades (dosis y formulaciones) que se utilizan por unidad de superficie en los cultivos para los que por el momento no se había encontrado una alternativa o sistema alternativo. Los consumos de BM en 1995 incluyen los de los cultivos de tomate (Alicante, Almería, Murcia), patata (Valencia), judías verdes (Almería), calabacín (Almería), melón (Almería), pepino (Almería), sandía (Almería, Valencia), pimiento (Murcia, Alicante, Almería), zanahoria (Cádiz), otras hortalizas (Cádiz,

Valencia, Barcelona), flor cortada (Cádiz, Sevilla, Barcelona), producción de fresa (Huelva, Barcelona, Mallorca), viveros de fresa (Segovia, Ávila, Navarra, Palencia, Huelva, Valladolid) y algún uso menor en cítricos (BELLO *et al.* 2000).

En España, la desinfección de suelos es una práctica habitual, y especialmente necesaria en las zonas de agricultura intensiva del sureste peninsular (LACASA *et al.* 2002). La aplicación de alternativas a la fumigación de suelos en cultivos hortícolas, fresas, frutales y viñedos, así como su eficacia en el manejo de organismos de suelos patógenos de las plantas cultivadas, han permitido la eliminación del BM como fumigante del suelo, de un modo gradual el 60% en el año 2001 y el 75% en el 2003, habiéndose solicitado para el año 2005 como **usos críticos** 1.059 t (25,3% del BM correspondiente a la línea base de consumo), que correspondían a 556 t para la producción de fresas (52,5%), viveros de fresas 230 t (21,7%), pimientos 200 t (18,9%) y flor cortada 73 t (6,9%), siendo el año 2008 el último de consumo de BM como fumigante de suelo con 200 t para viveros de fresa en Castilla y León, además de 151 kg para investigación en alternativas en cultivos de pimientos, flor cortada y producción de fresa (BELLO & TELLO 1998, BOLÍVAR 1999, BELLO *et al.* 2001, 2008a). Paralelamente el BM ha sido eliminando como fumigante de suelo en la EU, según la regulación 2037/2000 (2007) (MBTOC 2007). El uso de BM en España se ha venido centrando en el control de organismos del suelo patógenos, entre ellos hongos de los géneros *Fusarium*, *Phytophthora* y *Verticillium*, así como nematodos del género *Meloidogyne*, principalmente las especies *M. incognita* y *M. javanica*. Con estos antecedentes, los antiguos Ministerio de Medioambiente (MMA) y Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (MAPA) financiaron varios proyectos con el objetivo de buscar alternativas al BM en las Comunidades Autónomas de Andalucía, Castilla y León, Murcia y Valencia, con la participación de investigadores pertenecientes al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), distintas Universidades españolas y Centros de Investigación Agraria de cada CCAA, todos los subproyectos estaban coordinados por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA). El BM y sus usos críticos acabaron en España el año 2009, sin embargo todavía se siguen realizando trabajos para la búsqueda de alternativas, que comenzaron de manera más intensa desde 1992. Los mejores resultados se recogen en BARRES *et al.* (2006), trabajo en el que se analiza la situación de BM mundial y se aportan resultados para el manejo de los patógenos de los vegetales de origen edáfico.

Desde 1992 se ha venido investigando sobre el desarrollo de nuevas alternativas en España, siendo el cultivo de tomate un buen ejemplo de la eliminación de BM como fumigante del suelo, que sólo se venía aplicando en 875 ha (VARÉS 1998), que representan un 10% del cultivo bajo ambientes controlados y 1,5% de superficie total del cultivo de tomate en España,

habiéndose utilizado como alternativas variedades resistentes, sustratos tanto de origen natural como artificiales, injertos, rotación de cultivos, barbechos, regulando la época de plantación y medidas sanitarias para el manejo de semilleros. El vapor de agua no se ha utilizado con frecuencia por el alto coste energético de esta técnica y la solarización puede ocurrir de modo natural durante el verano (BELLO & TELLO 1998, BOLÍVAR 1999, TELLO 2000, LACASA *et al.* 2002, LÓPEZ-ARANDA *et al.* 2005, BARRES *et al.* 2006).

BELLO *et al.* (2003) recogen los distintos cultivos en los que, hasta la fecha, se había ensayado la biofumigación con resultados satisfactorios: fresas en Andalucía y Valencia, pimientos en Murcia y Castilla-La Mancha, cucurbitáceas en Valencia, Castilla-La Mancha y Madrid, tomate en Valencia y Canarias, viñedos en Castilla-La Mancha, plataneras en Canarias, zanahorias en Andalucía y Alicante, acelgas en Madrid y flor cortada, cítricos y árboles frutales en Valencia. BELLO *et al.* (2008a) analizan el interés de la **biofumigación** en la desinfección de suelos como alternativa al BM, tratando de sintetizar los resultados de trabajos anteriores (BELLO 1998, BELLO *et al.* 2003). Se han desarrollado en nuestro país diferentes alternativas al uso del BM, destacando entre las alternativas no químicas el uso de sustratos, rotación de cultivos, empleo de variedades resistentes y el injerto, principalmente en cucurbitáceas y solanáceas, frutales y viñedos, sin olvidar otras alternativas como el vapor de agua, la solarización y la biofumigación, cuya eficacia se incrementa cuando forman parte de un sistema de producción integrada de cultivos (IPM: **Integrated Protection Management**). En general las alternativas propuestas tienen un menor coste económico y tienen un riesgo menor, tanto para el medio ambiente como para la salud de los agricultores y consumidores.

La biofumigación combinada con solarización (**biosolarización**) se ha venido desarrollando en cucurbitáceas de Almería, Castilla-La Mancha, Madrid, Murcia y Valencia, en tomate de Canarias y Valencia, flor cortada de Cádiz y Valencia, cítricos y frutales de Valencia, viñedos de Castilla-La Mancha y Murcia, plataneras y tomates en Canarias, espinacas de Madrid y zanahorias de Alicante y Andalucía. Se han vendido utilizando como biofumigantes estiércoles frescos de caprino, ovino y vacuno, así como cascarilla de arroz, restos del cultivo de champiñón, olivo, brasicas y restos de jardines. Los costes de la biofumigación han sido muy similares a la aplicación de materia orgánica, que forman parte de los reglamentos de agricultura ecológica e integrada. La biofumigación es eficaz en el control de bacterias, hongos, insectos, flora arvense y nematodos de modo similar a los pesticidas convencionales, pudiendo también regular los problemas causados por virus al controlar a sus organismos vectores (BELLO *et al.* 2001, 2003, 2008a, LÓPEZ-PÉREZ *et al.* 2003a,b,c, BARRES *et al.* 2006). La biofumigación es una alternativa que permite reducir el uso de alternativas químicas en la eliminación de BM por mandato del protocolo de Montreal, por sus efectos destructivos de la

capa de ozono estratosférico (PORTER *et al.* 2006, MBTOC 2007, 2008). Por otro lado, se debe recordar que no siempre el BM resulta eficaz en el control de organismos del suelo causantes de enfermedades en los cultivos, puesto que su eficacia suele estar determinada por las condiciones del suelo tales como el pH, la humedad, la profundidad, el contenido de materia orgánica, actividad biológica o la temperatura (BELLO & TELLO 1998, BELLO *et al.* 2001, 2008a).

Se ha observado que la biofumigación resulta más eficaz cuando se cubre el suelo con un plástico impermeable, que evite la pérdida de los gases, y durante las estaciones de alta temperatura, especialmente en los meses de verano, puesto que puede complementarse con la solarización, denominándose por ello **biosolarización** (OZORES-HAMPTON *et al.* 2005, DíEZ-ROJO *et al.* 2008a,b,c, GUERRERO *et al.* 2008, SANTOS *et al.* 2008).

La gran complejidad de los procesos químicos, físicos y biológicos que regula la biodesinfección de suelos, no impide que sea una alternativa de fácil aplicación por técnicos e incluso agricultores, dependiendo su eficacia fundamentalmente de la selección de la materia orgánica, los residuos agroindustriales y los abonos verdes, utilizados como biofumigantes que deben tener una relación C/N comprendida entre 8-20 para que pueda dar lugar a gases con **efectos biocidas o biostáticos**, que debe estar acompañado con la retención de los gases mediante la utilización de plásticos o la creación de una capa aislante de arcilla a través de la aplicación de riego, **siendo necesario que los suelos tengan humedad y actividad biológica**, por ello se puede comenzar con unas dosis de materia orgánica altas de 50 t/ha e ir reduciéndola a lo largo de los años hasta 25 t/ha. Es fundamental la aplicación de la biodesinfección de suelos dentro de un programa de producción integrada de cultivos (BELLO *et al.* 2001, 2003, 2008a).

En España, en la Región de Murcia se han realizado los experimentos de biosolarización de mayor antigüedad utilizando estiércoles frescos de ovino. En el Campo de Cartagena, es una zona de monocultivo de pimiento de ciclo largo, para el cual se pidieron usos críticos de BM. Desde comienzos la década de los 80 todos los invernaderos de pimiento de la zona se desinfectaban con BM 98:2 a 60 g/m² y se cubrían con una lámina de plástico de polietileno, hasta que en 1998 se empezó a realizar con 30 g/m² y lámina de plástico VIF (*Virtually Impermeable Film*). La desinfección se realiza para el control de *Phytophthora capsici*, *M. incognita* y por la “fatiga de suelos”, que en tan sólo dos años provoca pérdidas de producción del 20% (GUERRERO *et al.* 2002b). A medida que se reitera la biosolarización sobre los mismos suelo, se obtienen mejores resultados en el manejo de *M. incognita*, disminuyendo el índice medio de nodulación y el porcentaje de plantas parasitadas, siendo el control a partir

del quinto año similar al del BM, todo ello acompañado de incrementos en la producción comercial y total (GUERRERO *et al.* 2002a,b, 2006). A pesar de esto, en algunas campañas e invernaderos, **la biosolarización para el control de *M. incognita* presenta resultados deficientes por lo que en un manejo integrado de cultivos, se propone como alternativa complementaria el uso de cultivares con genes de resistencia combinada con la biosolarización** (ROS *et al.* 2008). Además este método se muestra eficaz para el control de *Phytophthora capsici* cuando se reitera en años consecutivos (GUERRERO *et al.* 2006). Cuando se estudia el efecto de la biosolarización sobre la micoflora total y fusárica de la rizosfera de las plantas a lo largo del cultivo, se observa una reducción de la micoflora del suelo que resulta mayor cuanto más se repite el tratamiento, siendo a partir del tercer año similar a la de los tratamientos con BM (MARTÍNEZ *et al.* 2004).

Por otro lado, **la reiteración de la biosolarización provoca una mejora gradual de la calidad del suelo, mejoras en la calidad biológica, fertilidad, tanto en macronutrientes como en micronutrientes, densidad aparente, permeabilidad e infiltración del agua con respecto a los suelos que no incorporan enmiendas orgánicas. En este sentido se ha observado una disminución en el agua drenada, mejorando con ello su aprovechamiento. La fertilidad del suelo se ve incrementada, en macroelementos como el N_{total} , P, K o en microelementos, sobre todo en Fe biodisponible, lo cual mejora la productividad significativamente. Además, se ha comprobado que la lixiviación de NO_3^- es muy similar a la que se obtiene en suelos en los que no se han incorporado enmiendas orgánicas, incluso a las dosis de 100 t/ha** (FERNÁNDEZ *et al.* 2008, PASCUAL *et al.* 2008). Sobre el riesgo de acumulación de metales pesados, FLORES *et al.* (2006) lo estudiaron en suelos sometidos a desinfecciones sucesivas combinando las técnicas de solarización con biofumigación concluyendo que tras seis años de repetición **no se observó acumulación de los metales estudiados (Cd, Co, Cu, Cr, Pb, Ni y Zn) por lo que califican la combinación como de alternativa segura.**

Con el fin de optimizar la eficacia de la biosolarización y para reducir riesgos de seguridad alimentaria debido al uso de estiércoles frescos, se estudió la posibilidad de mezclar los estiércoles con otras fuentes de materia orgánica como restos de cultivo de brócoli o restos de la agroindustria de los cítricos, así como la posibilidad de usar estiércoles semicompostados a 75 °C, observando que la eficacia de las mezclas o del estiércol semicompostado es similar a la del uso de BM a la dosis de 30 g/m² con plástico VIF (GUERRERO *et al.* 2008).

TORRES *et al.* (2007) estudian el efecto biofumigante de la aplicación de la materia orgánica combinada con solarización en suelos enarenados representativos de Almería, donde se han

venido utilizando principalmente métodos químicos para la desinfección de suelos. El objetivo general del trabajo fue el manejo de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* mediante alternativas no químicas. Para ello, como objetivos específicos se pretenden recuperar las técnicas tradicionales de aplicación de la materia orgánica en los enarenados almerienses, que podemos considerar están fundamentadas en las bases científicas que regulan los procesos de biofumigación y en muchos casos se asocia además con solarización (biosolarización). Los trabajos se realizaron con estiércoles frescos y también se estudió el efecto de la utilización de los restos del cultivo de tomate, que contribuyen al cierre de los ciclos de nutrientes en el sistema de cultivo. Además se estudió el efecto de un fertilizante orgánico de origen agroindustrial. Se pretende optimizar las técnicas tradicionales en suelos enarenados, que hasta ahora estaban centradas en la aplicación de estiércoles de origen animal. Las técnicas de manejo empleadas se han evaluado económicamente con el fin de optimizar la utilización de los diferentes factores productivos. Se ha tratado de seleccionar aquellas alternativas que permitan cerrar ciclos de nutrientes y estén basadas en la utilización de recursos locales. En el trabajo se establece el índice de nodulación como técnica de estimación de los niveles de infección producidos por nematodos del género *Meloidogyne* sobre plantas susceptibles, con el fin de elaborar una metodología de fácil aplicación en campo. Se concluye que la eficacia de la biosolarización depende fundamentalmente del método de aplicación, y no de factores aislados tales como dosis, composición o distribución de la materia orgánica en el suelo, estando los costes determinados por el método empleado, que debe tratar de reducir dosis y gastos de transporte. Se comprobó la importancia del enarenado tradicional en el control de nematodos, encontrando que también modifica la distribución en profundidad del sistema radicular de los cultivos, lo que es un factor limitante al requerir un diseño de un sistema de manejo agronómico adaptado a cada una de las circunstancias.

La frecuente presencia en los enarenados de Almería de complejos de especies o biotipos de nematodos del género *Meloidogyne*, hace que para su control sea necesario el diseño de un sistema de manejo agronómico basado en el conocimiento de sus características agroecológicas, que tenga en cuenta la experiencia de los agricultores, así como las técnicas tradicionales de cultivo en Almería.

Además se han realizado experiencias en campo para cultivos con un ciclo de duración mayor de un año. En Chipiona (Cádiz) la utilización de gallinaza y de los restos de clavel del cultivo anterior han mostrado resultados prometedores para el control de las enfermedades asociadas al cultivo del clavel como pueden ser *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* o a los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, presentando resultados similares a los

fumigantes químicos. Los tratamientos, que se cubrían con una lámina de plástico durante 30 días mantenían la sanidad del cultivo durante los dos años de cultivo, incluso mejorando al BM, testigo de tratamiento químico, tanto en la sanidad del cultivo como en la producción final, sin contar con la mejora fisicoquímica del suelo (GARCÍA-RUIZ 2008, GARCÍA-RUIZ & GARCÍA-BERNAL 2009, GARCÍA-RUIZ *et al.* 2009). La biofumigación utilizando gallinaza y los restos de cultivo del clavel para el control de *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* es más efectiva cuanto mayor es la temperatura a la cual se desarrolla el tratamiento (VILLAMAR *et al.* 2008).

Para intentar reconvertir los sistemas agrarios en sistemas más sostenibles recuperando la energía de los agrosistemas y para reducir los costes de los tratamientos de desinfección mediante el uso de materia orgánica, se han realizado diversos trabajos utilizando restos de cosecha, así REGALADO *et al.* (2006) incorporan restos de cosecha de pimiento, calabaza y tomate, observando que los restos del cultivo de tomate son los que mejores resultados se obtienen en el manejo de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. PIEDRA BUENA *et al.* (2006, 2007) aportan información de la utilización de restos de pimiento en el manejo de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, mientras que en otro trabajo LÓPEZ-CEPERO *et al.* (2007) aportan los resultados obtenidos cuando utilizan restos de jardinería como los de naranjo, olivo, adelfa, pino y boj comparándolos con estiércol y brasicas. Por otro lado, VILASECA (2007) estudia el efecto biofumigante de restos de tomate en el control de los virus ToMV y PepMV así como del hongo *Olpidium brassicae*.

En la bibliografía se encuentran muchos trabajos relacionados con la utilización de enmiendas orgánicas, principalmente con estiércoles de origen animal y con brasicas, para el manejo de enfermedades de origen edáfico principalmente para los cultivos de pimiento y de tomate. En pimiento, los principales trabajos se ha realizado en Murcia y se han analizado anteriormente, aunque también se pueden encontrar otros trabajos, así YÉLAMOS *et al.* (2002) estudian la microflora total, actinomicetos y bacterias de suelos biofumigados. SANTOS *et al.* (2004) estudian la eficacia de los restos de cultivo de calabacín, pepino, pimiento y tomate para el control de *P. capsici* para el cultivo de pimiento. DÍAZ-HERNÁNDEZ *et al.* (2002) estudian la dinámica de hongos, actinomicetos y bacterias del suelo en tratamientos de biofumigación combinada con solarización. COIDURAS *et al.* (2004) estudian el efecto de la biofumigación combinada con solarización sobre la producción de tomate en cultivo ecológico, utilizando restos de cultivo de sandía ecológico, estiércol de porcino y caprino mezclados y el uso de microorganismos eficientes. DÍAZ-HERNÁNDEZ *et al.* (2004) estudian el efecto a largo plazo de la biosolarización sobre *Pyrenochaeta lycopersici*, sobre la actividad biológica del suelo y sobre la producción observando que todos los parámetros son mejores cuando se comparan con la solarización y el testigo. SEGURA *et al.* (2004) estudian el efecto de la biosolarización

utilizando restos de cultivo de tomate y melón para el control de *F. oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*, reduciéndose considerablemente el porcentaje de plantas afectadas.

En el cultivo de la fresa se ha estudiado el efecto de la biofumigación y el de la biosolarización con gallinaza fresca, a razón de 3 kg/m², para conocer su comportamiento en la producción y sobre la flora arvense (AGUIRRE *et al.* 2004, LÓPEZ-MARTÍNEZ *et al.* 2004). La utilización de *Brassica carinata* a la dosis de 10 kg/m² combinada con solarización ha sido estudiada por PORRAS *et al.* (2008) encontrando que produce mayores incrementos en la producción de fresa y disminuye la densidad de inóculo de *Phytophthora cactorum* con respecto a un control y a la solarización, sobre todo al principio de cultivo que es un momento clave para el establecimiento de la planta. Las producciones más precoces y el menor número de plantas enfermas/m² se dieron para el tratamiento de biosolarización. Para *F. oxysporum* f.sp. *radicis cucumerinum* se estudio el efecto de la biofumigación *in vitro* con restos de cosecha de tomate, pimiento, calabacín, y pepino en laboratorio en un sustrato inerte, en el cual no se obtuvieron resultados definidos (BOIX *et al.* 2004). También existen trabajos sobre biofumigación en cultivos extensivos, así BELLO *et al.* (2003) estudian el efecto de la biofumigación en el cultivo de la zanahoria, REYES *et al.* (2004a,b) estudian la biofumigación combinada o no con solarización con hojas de olivo en un olivar implantado con el fin de proponer un protocolo de manejo de *V. dahliae*, hongo vascular, estudiando además su efecto sobre *Fusarium*, *Pythium* y *Phytophthora*, su acción herbicida, crecimiento de los olivos, producción y realizan una valoración económica. BERBEGAL *et al.* (2006), estudian el poder biofumigante de los restos de coliflor para el control de *V. dahliae* en el cultivo de alcachofa. Observan que la enfermedad al ser vascular no tiene efecto curativo, pero si una mejoría de los árboles tratados. BEJARANO-ALCÁZAR (2004) estudian el efecto de la biosolarización utilizando pasto de Sudán para el control de *V. dahliae* en los viveros de olivo. AVILÉS-GUERRERO *et al.* (2008) estudia en suelos de olivar el poder de *B. carinata*, *Eruca versicaria* y *Sinapis alba* para controlar *V. dahliae*. Con todas las brasicas estudiadas se observaron que disminuía de la densidad de inóculo, siendo mayor cuando utilizaba *S. alba*, siendo esta especie la que producía mayores aumentos de la actividad microbiana del suelo. BELLO *et al.* (2004a) y GÓMEZ SORIANO *et al.* (2005) estudiaron el efecto de la biofumigación en la replantación del viñedo, observando que se trata de un método eficaz en el control de *Xiphinema index*, nematodo transmisor del virus del GFLV (*Grapevine Fan Leave Virus*). SACRISTÁN *et al.* (2004) utilizaron restos de cultivo de fresa para el manejo de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de remolacha. Incluso también se han realizado trabajos de biofumigación *in vitro* para el control de *Phytophthora cinnamomi*, hongo causante de la “seca de los *Quercus*” en los sistemas agroforestales de dehesa en Andalucía, utilizando como biofumigante cuatro especies arbustivas y de matorral mediterráneo que comparten hábitat

con las especies del género *Quercus* como son *Cistus albus*, *C. ladanifer*, *Diplotaxis* sp. y *Phlomis purpurea*, con brasicas cultivadas como *B. carinata* y *B. juncea*, así como con distintos estiércoles frescos. En el trabajo señalan que todos los materiales biofumigantes redujeron la densidad de inóculo, si bien los mejores resultados se obtuvieron para *B. carinata* y para la gallinaza (VICENTE *et al.* 2008). El efecto biofumigante de las brasicas *B. carinata*, *B. juncea*, *B. napus* y *B. nigra* para el control de *Phytophthora cactorum* y *V. dahliae*, así como su fase de desarrollo más eficaz ha sido estudiado por ROMERO *et al.* (2008) señalando que *B. carinata* y *B. juncea* en estadio fruto son las que presentan un mayor efecto supresivo.

Los trabajos analizados otorgan a la biodesinfección una eficacia similar a la de los productos de síntesis convencionales, sobre todo en el manejo de nematodos. Los resultados de los trabajos analizados corroboran el interés de la biofumigación, preferiblemente combinada con solarización, como parte de un sistema de producción integrada. Además se debe destacar que la biodesinfección es una alternativa al manejo de fumigantes químicos como puede ser el 1,3-D, que se degrada por la acción de los microorganismos, disminuyendo su eficacia (OU *et al.* 1995, VERHAGEN *et al.* 1996, DUNGAN & YATES 2003). Además, el 1,3-D es un posible contaminante de las aguas subterráneas, uno de los principales factores limitantes para su empleo como fumigante del suelo, habiéndose presentado también casos de fitotoxicidad (MBTOC 2008). Estos fundamentos se recogen en un video coordinado por BELLO *et al.* (2010a).

3. METODOLOGÍA UTILIZADA

Se pretende establecer la metodología que nos permita caracterizar los problemas producidos por nematodos fitoparásitos, así como valorar la eficacia de la biodesinfección de suelos como una alternativa de manejo. Se tiene en cuenta especialmente la realidad agraria de nuestro país, tratando de conocer las interacciones entre los distintos elementos del cultivo: condiciones ambientales, sistemas de manejo y suelo (nematofauna), que pueden afectar al desarrollo de los cultivos, con el fin de elaborar un protocolo de trabajo que permita optimizar la biodesinfección de suelos como alternativa, incrementando su eficacia y rentabilidad al disminuir costes.

Se comienza por describir las características de las zonas de estudiadas (3.1) en las cuales se establecen los experimentos para determinar la eficacia de la biodesinfección y en las que se caracterizan las poblaciones de nematodos del género *Meloidogyne*. A continuación se exponen los métodos de muestreo y de extracción (3.2) y las técnicas de estudio cuantitativo y cualitativo de los nematodos fitoparásitos (3.3), así como las utilizadas para la identificación y caracterización de las poblaciones de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* (3.4). Se realiza una descripción de los métodos utilizados para la evaluación de la biodesinfección de suelos en condiciones de laboratorio (3.5), su influencia sobre la fertilidad del suelo (3.6) y posteriormente en campo (3.7). Se finaliza con la descripción de los métodos estadísticos utilizados en el análisis de los resultados obtenidos (3.8).

3.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS ZONAS ESTUDIADAS

Los estudios realizados en el trabajo se han centrado fundamentalmente en diez zonas: los experimentos de laboratorio en estudios sobre suelos del Campo de Cartagena (Murcia, a), El Perelló (Valencia), Jumilla (Murcia, b) y Villa del Prado (Madrid). Los experimentos de campo en hortícolas bajo plástico se han llevado a cabo en San Isidro de Níjar (Almería), en la finca experimental Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia), Centro Agrario de Marchamalo (Guadalajara, a), mientras que los de viñedos se han realizado en Membrilla, Socuéllamos, Tomelloso (Ciudad Real, b, c, d) y Jumilla (Murcia). Para finalizar el estudio de las poblaciones de nematodos se centra en seis Comunidades Autónomas: Almería (Andalucía), Castilla-La Mancha & Madrid, Extremadura, Murcia y Comunidad Valenciana.

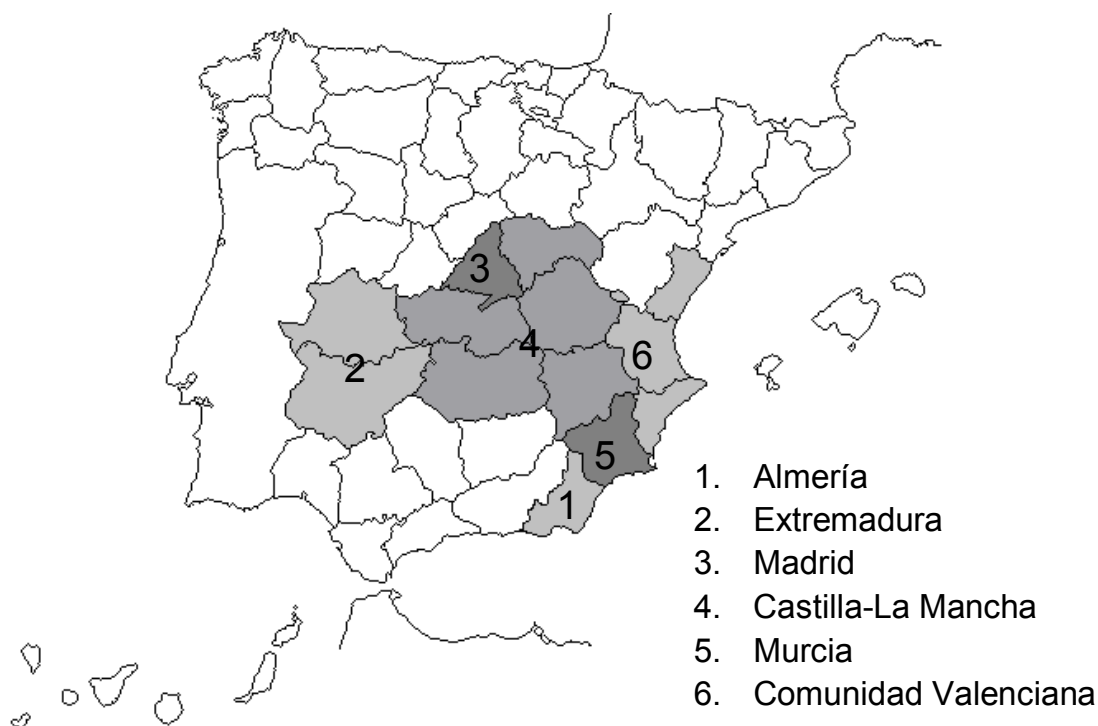


Figura 3.1. Zonas de España seleccionadas en el trabajo.

3.2. MUESTREOS Y TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN

En este apartado se describe la metodología empleada en la caracterización de las zonas de muestreo, con el fin de obtener datos de la densidad de las poblaciones de nematodos, que sean representativos de su distribución en el suelo, al mismo tiempo que conocer el efecto de la biodesinfección sobre el control de los mismos y la fertilidad del suelo. Se describen las técnicas empleadas para la recogida de muestras, almacenamiento y posterior preparación para la extracción. La vía para determinar las relaciones existentes entre nematodo-hospedador es cuantificar la densidad de población del nematodo. Esta estimación, requiere un conocimiento previo de la distribución del nematodo a través del perfil del suelo con vistas a optimizar los procesos de muestreo. Tanto en los cultivos hortícolas como en los viñedos, las muestras de suelo suelen estar relacionadas con el área de mayor densidad de raíces, que se refleja en el vigor de la planta y, a su vez, puede ser usada como una medida de la severidad de la infección por el nematodo. El conocimiento de la abundancia de nematodos en la muestra puede proporcionar una información que nos puede servir de orientación para conocer la distribución del nematodo en la parcela (RODRÍGUEZ-MOLINA 1996).

3.2.1. Muestreos

De acuerdo a lo señalado en los apartados anteriores, se ha realizado el estudio de los perfiles del suelo representativo de las áreas estudiadas, y para conocer la distribución de nematodos en profundidad se han tomado muestras a profundidades entre 0-20 cm y 20-40 cm como norma general en los cultivos hortícolas, mientras que en los viñedos si estaban establecidos se tomaron las muestras en la zona con mayor presencia de raíces. Como base del muestreo se eligieron los puntos de toma de muestra al azar siguiendo un esquema en función de cada parcela. Las muestras se recogen utilizando como instrumento una azadilla o una sonda. En el caso de que se tenga que realizar tomas de muestras de plantas, se eligen al azar tanto plantas con síntomas externos de baja producción como sanas. Las muestras han sido recogidas de cada una de las plantas seleccionadas, por lo general a una profundidad entre 0-20 cm, utilizando como instrumento una azadilla. Con ella se cava hasta que aparecen las raíces secundarias recogiendo unos 20 g de raíces y parte del suelo que las rodea, unos 500 g. Cuando se quiere estudiar la distribución vertical de los nematodos se utiliza una sonda, siempre que se trate de suelos que no sean pedregosos. Las muestras de raíz y suelo se conservan separadamente en bolsas de plástico para evitar la pérdida de humedad. Se etiqueta debidamente con un número que corresponde al cuaderno de campo, para su transporte al laboratorio.

Paralelamente a estas operaciones se registran en un cuaderno de campo las características de la muestra: datos para su localización, características del cultivo, tipo de suelo, fecha de recogida y otros factores que pueden ser de interés. El transporte al laboratorio debe hacerse en cajas de paredes aislantes, para que no influya la temperatura durante el transporte, no tardando nunca en esta operación más de uno a dos días. Las muestras se almacenan en cámaras frigoríficas a una temperatura entre 5-10 °C, bajo la cual los nematodos están en estado de latencia. La temperatura de almacenaje es importante, puesto que si las muestras se someten a temperaturas inferiores a las indicadas pueden morir muchos de los nematodos, y a temperaturas superiores los huevos pueden eclosionar y reproducirse, con lo cual la población existente en la muestra no sería representativa de la del momento de su recogida.

A continuación se describen las distintas técnicas empleadas para la extracción de muestras, teniendo en cuenta las características de movilidad de los nematodos, estas técnicas vienen definidas por el estadio del nematodo que nos interese determinar, siendo recomendable la extracción a partir de suelo cuando el objeto del trabajo sea cuantificar la densidad de individuos en fase preinfectiva.

3.2.2. Procesos previos a la extracción (Fig. 3.2)

Para la extracción de nematodos, la muestra se homogeneiza, se pasa por un tamiz con luz de malla de 2 mm, siempre que la muestra esté seca, e incluso si el suelo está seco pero no es demasiado pedregoso, y se toma una fracción de 200 cm³. Se coloca la fracción obtenida en un recipiente con agua, donde se mantiene un tiempo mínimo de un cuarto de hora. Mientras, en una hoja de laboratorio se registran todas las características de la muestra. Se opera de un modo semejante con la muestra de raíz de la que se toman 5 g de la muestra. El resto de suelo y raíz no utilizados en el análisis se guardan en cámaras frigoríficas para estudios posteriores, después de separar una fracción del suelo para determinar el pH, materia orgánica, humedad y realizar el análisis mecánico del suelo, cuando se considere necesario.

3.2.3. Extracción a partir de suelo

Los métodos de extracción en Nematología, tratan por diferentes vías de separar los nematodos de las restantes fracciones del suelo: grava, arena, limo, arcilla, fibras vegetales y agua. Aunque los métodos de extracción son numerosos, teniendo en cuenta su fundamento existen sólo dos grupos principales, unos que se basan en la densidad de los nematodos y otros en su movilidad. Un método de extracción se considera satisfactorio cuando la mayor parte de los nematodos se recogen en una pequeña suspensión de agua, conteniendo muy poca cantidad de las demás fracciones. Hemos elegido la centrifugación por ser el método más adecuado para el estudio del efecto de los biodesinfectantes sobre los nematodos del suelo, puesto que éstos pueden estar muertos y es más conveniente aplicar métodos de centrifugación basados en la densidad de los nematodos y no en su movilidad, aunque para el estudio de *Xiphinema index* se ha utilizado el método de BAERMAN (1917), según la modificación de FLEGG (1967).

3.2.3.1. Método de centrifugación (Fig. 3.2). La muestra una vez tamizada se prepara para la centrifugación, para ello se elimina la arena agitando la cápsula que contiene la muestra hasta que la mayor parte del limo, arcilla y fibras vegetales, así como los nematodos, queden en suspensión, vertiéndose la suspensión en un recipiente transparente de un volumen de cuatro litros; el proceso se repite varias veces hasta que el agua esté más o menos transparente, lo que indica que en la cápsula queda sólo arena, habiendo pasado los nematodos, el limo, la arcilla y las fibras vegetales al recipiente transparente de cristal o plástico, que debe completarse con agua hasta su borde y dejarse reposar hasta que las fibras vegetales suban a la superficie mientras que el limo y la arcilla, así como los nematodos se sedimenten.

Las fibras vegetales que flotan en la superficie del recipiente se eliminan con agua a presión, pero generalmente se pone una tira de papel de filtro que retiene las fibras vegetales y permite detectar la posible presencia de nematodos formadores de quistes de los géneros *Heterodera* y *Globodera*, que son frecuentes en cultivos hortícolas y extensivos como los cereales, remolacha o leguminosas. Mediante un sifón de decantación se va eliminando parte del agua y la arcilla que está en suspensión hasta que sólo quedan los sedimentos. Estos sedimentos se pasan a un vaso de precipitado de un litro de capacidad, que se enrasa con agua para eliminar los restos de partículas vegetales, que flotan en la superficie, mediante agua a presión. Se deja sedimentar de nuevo y se reduce su contenido mediante filtración de toda la suspensión acuosa a través de un tamiz de malla de 10 μm . Se lava el tamiz sobre un vaso de precipitado hasta alcanzar un volumen aproximado de 200 ml, se agita para que quede bien homogeneizado, vertiéndose de modo uniforme en los cuatro tubos de la centrífuga que tenían una capacidad total aproximada de 300 ml, y se realizan a continuación dos centrifugaciones, siguiendo el método de NOMBELA & BELLO (1983).

La primera centrifugación se realiza a $\text{FRC} = 1.800 \times \text{g}$, durante tres minutos. Se decanta suavemente el agua, haciendo girar el tubo lentamente sobre su eje longitudinal para impedir que se puedan caer pequeñas fracciones del sedimento, eliminando, mediante este paso, el agua utilizada en la extracción y quedando únicamente el limo, parte de la arcilla y los nematodos.

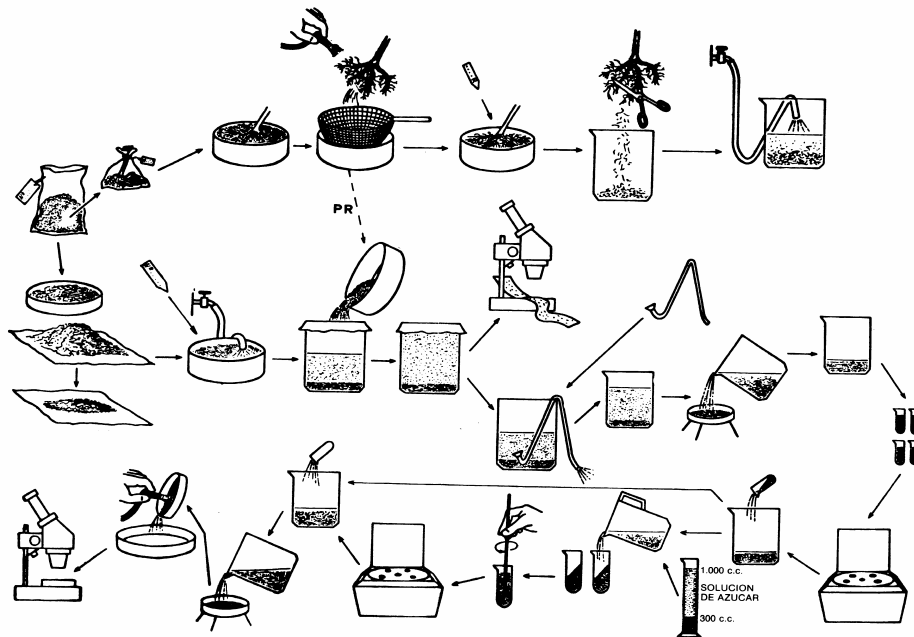


Figura 3.2. Extracción de nematodos por centrifugación (NOMBELA & BELLO 1983).

La segunda centrifugación se lleva a cabo añadiendo, al residuo que queda en los tubos de centrifuga, una solución de azúcar de densidad 1,18 (700 ml de agua + 300 ml de azúcar) mezclándolo bien con un agitador. Se centrifuga a continuación durante medio minuto, dependiendo de la naturaleza de la muestra, a 1500 r.p.m. Los sobrenadantes de las dos centrifugaciones se unen en una sola suspensión que se vierte sobre un tamiz de luz de malla de 10 μm que se lava con agua a presión, pasando el residuo que queda en él a una placa de Petri para iniciar el recuento. Esta última fase debe realizarse con gran rapidez especialmente cuando los nematodos están destinados a estudios taxonómicos o morfológicos, puesto que al estar sometidos a la solución de azúcar puede producirse plasmolisis que los deformen, e incluso pueden morir.

Con la segunda centrifugación logramos separar los nematodos de la arcilla y el limo. Este se sedimenta en el fondo de los tubos, mientras que los nematodos y la arcilla quedan en flotación, por tener menor densidad. El tamiz de 10 μm de luz de malla permite el paso de la arcilla y quedan sólo retenidos en él los nematodos y, en algún caso, resto de fibras vegetales que pueden eliminarse con unas pinzas, y en caso de ser muy abundantes, se vierte el contenido del tamiz sobre otro de 50 μm de luz de malla, que se deja reposar en una placa de Petri con una pequeña cantidad de agua, permitiendo así el paso de los nematodos a la placa, mientras que las fibras quedan retenidas por el tamiz.

3.2.3.2. Método de Flegg (Fig. 3.3). La extracción de los nematodos se ha realizado también mediante una modificación de la técnica de decantación y filtración de FLEGG (1967), basado en la movilidad de los nematodos y en su velocidad de sedimentación de acuerdo con su tamaño.

El método de FLEGG (1967) se fundamenta en los siguientes procesos: una vez pasado el período de remojo necesario de la muestra en el vaso de precipitado, se deposita en un recipiente de unos 30 cm de diámetro, añadiendo agua a presión y agitando activamente la muestra con la mano para poner en suspensión las partículas. Después de 25 segundos de sedimentación, el fluido sobrenadante se decanta a través de una batería de dos cedazos de 150 μm de apertura de malla el mayor y de 100 μm el menor. El residuo recogido en los cedazos se lava suavemente y se recoge en un recipiente. Se repite el procedimiento y tras 15 segundos de sedimentación se decanta de nuevo a través de la misma batería de cedazos y se recoge igualmente el residuo.

El residuo de los cedazos se lava cuidadosamente y se vierte sobre un cedazo de nylon de 90 μm de luz de malla y 12 cm de diámetro, que se coloca en un recipiente de plástico con diámetro diferenciado, 8,5 cm en la base y 13,5 cm en la parte superior y una altura aproximada de 9 cm, con agua suficiente para que el filtro y los residuos queden remojados. Pasadas 48 horas, el contenido del recipiente se pasa por un tamiz de 10 μm de luz de malla y se recoge cuidadosamente en una placa de Petri.

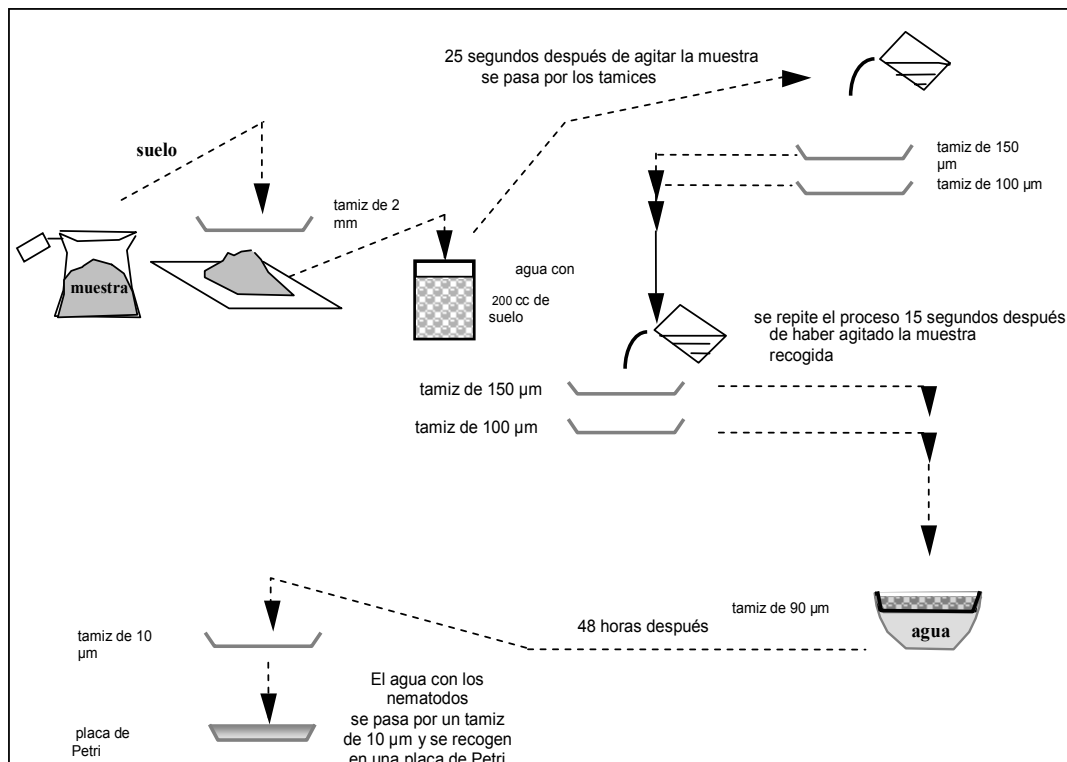


Figura 3.3. Método de extracción de FLEGG (1967).

3.2.4. Extracción a partir de raíz (Fig. 3.2)

Para conocer los nematodos de vida endoparásita y ectoparásitos, se deben separar las fracciones perirradicular de la radicular. En la primera, predominan las formas ectoparásitas y en la radicular las endoparásitas o semiendoparásitas. El proceso seguido consiste en someter las raíces, después de haber estado en una cápsula con agua alrededor de media hora, a un fuerte lavado para separar las partículas de tierra que puedan tener adheridas, así como de los nematodos que se encuentren en la parte externa de la misma. El resultado se recoge en un vaso de precipitado de un litro de capacidad, constituyendo la fracción perirradicular (PR). La raíz (R), después de lavada, se conserva dentro de la cápsula con agua, con el fin de que sus tejidos se reblandezcan y faciliten el proceso de salida de los nematodos para su posterior extracción.

Para la extracción de la fracción perirradicular (PR), se deja sedimentar durante un cierto tiempo, como en el caso de la fracción suelo, vertiéndose el contenido del vaso de precipitado, a través de un tamiz de luz de malla de 10 μm , se reduce su contenido a 100 cm^3 aproximadamente; este volumen se reparte en dos tubos de la centrífuga, iniciándose la fase de centrifugación y repitiéndose los mismos procesos que en la fracción suelo, con la única excepción de que el tiempo de la primera centrifugación se reduce a 2 minutos, puesto que el contenido en limo es mucho menor.

Por último se procede a la extracción de la fracción radicular (R), realizando un examen minucioso del estado de la raíz, observando si hay pequeños grumos de arena adheridos a la corteza, si ésta se desprende con facilidad, dejando al descubierto el cilindro central de la raíz, la falta de raíces secundarias y el estado de putrefacción, síntomas característicos de una infección avanzada de nematodos, estableciéndose índices visuales orientativos del estado de la raíz. En el caso de los nematodos formadores de nódulos (*Meloidogyne*) se determinan los índices de nodulación, según BRIDGE & PAGE (1980). Si las raíces están sanas presentan un color blanquecino, lechoso, brillante y están desprovistas de todos los síntomas anteriormente descritos. Para una mejor valoración de los síntomas, la raíz debe estar sumergida en agua. Una vez realizado el examen directo, se cortan las raíces en trozos de aproximadamente 2 cm de longitud sobre el vaso de una batidora y se añaden dos cucharaditas de caolín para que al sedimentarse retengan las fibras vegetales. El agua que queda en la cápsula y la resultante de su lavado se filtra a través de un tamiz de 10 μm y el contenido de este tamiz se vierte en el vaso de la batidora y se trituran durante uno o dos minutos, dependiendo del grosor de las raíces. El contenido de la batidora se reparte en los cuatro tubos de la centrífuga, sometiéndose a continuación al mismo proceso que para la extracción de suelo. Este método, desde el punto de vista cuantitativo, puede tener un cierto margen de error, ya que la corteza de la raíz queda dividida en pequeñas fracciones, las cuales pueden retener nematodos endoparásitos, debido a que permanecen unidos a ella por su región anterior (COOLEN 1979, NOMBELA & BELLO 1983).

3.3. ESTUDIO CUANTITATIVO Y CUALITATIVO DE NEMATODOS

En este apartado se incluyen las distintas metodologías empleadas en el recuento y aislamiento de nematodos, los procesos seguidos para la fijación y montaje de aquellos individuos que se consideren de interés para posteriores estudios microscópicos, así como los métodos de conservación del extracto de la muestra. A continuación se describe el método de tinción de nematodos en tejidos vegetales más frecuentemente utilizado para identificar de manera sencilla las fases parásitas, ya que es difícil reconocer al animal sin emplear técnicas que permitan diferenciarlas de las raíces.

Recuento y aislamiento. El recuento se realiza en una placa de Petri de fondo plano, en la cual se recogen los nematodos tras su extracción, observando bajo un microscopio estereoscópico la cantidad total de nematodos. Si el número es pequeño, se inicia el recuento directamente, con la ayuda de un contador de mano múltiple, pero si se observa gran cantidad de ejemplares, se divide la placa con un lápiz grueso en dos o cuatro cuadrantes. Los resultados del recuento se registran en una hoja de recuentos, en la que figuran los géneros más comunes, indicándose el número de ejemplares de cada grupo. De este modo, se obtiene la cantidad de nematodos que hay en 100 cm^3 de suelo. Si son una cantidad grande, se recogen a continuación en una copa graduada y se dejan sedimentar durante cuatro horas, a continuación se reduce el volumen a 10 cm^3 y se extrae 1 cm^3 de la fracción que se recuenta y se multiplican por 10 para presentarlos referidos a 100 cm^3 .

El **aislamiento** de los nematodos se realiza después de la extracción o como máximo antes de dos días, para que no se desarrollen micelios de hongos. Se prepara un pocillo con agua destilada para aislar los nematodos que se van a montar en glicerina. El pocillo se etiqueta con el número de la muestra y el aislamiento se realiza con un pincel al que se han dejado únicamente dos fibras. Al mismo tiempo, si se quiere realizar una determinación previa de alguno de los nematodos aislados, se prepara un portaobjetos de cristal, en el que se vierte una gota de agua destilada, donde se colocan los nematodos aislados, se mantiene sobre la llama de un mechero y se tiñe con una gota de azul lactofenol. Es conveniente que el número de nematodos por preparación no sea superior a 10 individuos, de modo que los restantes cuyo estudio se considera de interés se pasan al pocillo.

Muerte, fijación y montaje. Los ejemplares, que han sido aislados en el pocillo, se matan y fijan en el día para evitar el crecimiento de micelios de hongos. Para ello, una vez que los nematodos se encuentran en el fondo del pocillo, se retira la mayor cantidad de agua posible con una pipeta Pasteur y a continuación se añade fijador I, previamente calentado al baño de María entre $70\text{-}80\text{ }^\circ\text{C}$. El pocillo se tapa para que no se evapore el formol del fijador y se mantiene así durante varios días, al cabo de los cuales después de quitar la tapa, se introduce en un recipiente herméticamente cerrado bajo una atmósfera de alcohol, que se mantiene durante 12 horas en una estufa a $39\text{ }^\circ\text{C}$. Transcurrido este tiempo, se saca el pocillo de la atmósfera de alcohol y se deja evaporar lentamente en la estufa. Una vez evaporado el fijador I, se añade fijador II y se deja evaporar de nuevo, después se añade fijador III y se deja en la estufa, en la que puede permanecer hasta una semana. Una vez terminado el proceso se lleva el pocillo a un desecador que contiene cloruro de calcio o gel de sílice. En este desecador se

mantendrán los nematodos en glicerina hasta el momento de ser montados. La composición de los fijadores siguiendo el método de GRISSE DE (1969), se recogen en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Composición de los fijadores (GRISSE DE 1969).

| Fijador I (cm ³) | Fijador II (cm ³) | Fijador III (cm ³) |
|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Agua destilada 89 | Etanol 96% 95 | Etanol 96% 50 |
| Formol 40% 10 | Glicerina 5 | Glicerina 50 |
| Glicerina 1 | | |

El **montaje** de los nematodos se realiza en un portaobjetos, en cuyo centro se ha colocado un pequeño círculo de parafina solidificada. Los nematodos ya fijados y procesados se pasan desde el pocillo a una pequeña gota de glicerina colocada en el interior del círculo de parafina. Antes de colocar el cubreobjetos, se procura poner los individuos en el centro de la preparación, realizando este proceso bajo un microscopio estereoscópico para evitar que queden superpuestos. Tras poner el cubreobjetos, se acerca la preparación a una placa térmica a 60 °C para que al fundirse la parafina quede sellada.

Conservación del extracto de la muestra. Una vez aislados los nematodos para su fijación y montaje, el contenido de la placa de Petri con los restantes nematodos se pasa a una copa graduada donde se dejan sedimentar; posteriormente se reduce el agua con la ayuda de un frasco lavador. La copa se lava con fijador I, calentando entre 70-80 °C al baño de María, vertiéndose en frasco de conservación, de modo que los nematodos queden fijados. Seguidamente, se registra y almacena el frasco. Cuando el número de muestras es elevado se pasa directamente a la fijación después de la extracción. En una etapa posterior se podrán seleccionar los ejemplares que se deseen y se seguirá el proceso indicado anteriormente.

Estudios morfométricos. Las observaciones se realizan entre 400-1200 aumentos bajo un microscopio LEITZ Dialux 22 con contraste de interferencia diferencial, Nomarski, y cámara clara incorporados. Mediante inmersión y contraste de interferencia diferencial se han estudiado las características morfológicas de los nematodos, permitiendo su determinación a nivel de especie. Para el estudio morfométrico se realizan dibujos, con cámara clara, de cada uno de los ejemplares estudiados, sobre ellos se toman las medidas de los individuos, en algunas ocasiones mediante la utilización de una tableta digitalizadora, pero en general con la ayuda de un curvómetro. Para su determinación se han utilizado los índices somatométricos de MAN DE (1880), así como otras medidas establecidas posteriormente para la determinación de estos géneros:

Índices de Man de (1880)

- L = Longitud total en mm
- a = Longitud total / Anchura máxima
- b = Longitud total / Longitud de la región faríngea
- c = Longitud total / Longitud de la región posterior
- c' = Longitud de la cola/ Anchura del diámetro anal
- V = Distancia desde el extremo anterior a la vulva/ Longitud total \times 100
- G₁ = Longitud rama genital anterior / Longitud total \times 100
- G₂ = Longitud rama genital posterior / Longitud total \times 100
- T = Longitud de la gónada masculina / Longitud total \times 100

Otras medidas (μ m):

- Longitud del esófago, longitud que se mide desde el final del odontostilo hasta el cardíaco.
- Longitud del odontostilo.
- Longitud de la espícula del macho, medida tomada por el interior de la misma.
- Anchura labial, medida en la parte más ancha.
- Longitud de la región caudal, desde el ano hasta el extremo posterior.
- Número de suplementos precloacales en el macho.

3.4. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES, RAZAS Y BIOTIPOS DE NEMATODOS DEL GÉNERO *Meloidogyne*

Para la determinación de las especies de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en primer lugar se ha realizado su identificación mediante morfología y morfometría, confirmándose posteriormente mediante métodos moleculares (PCR), llegando hasta este paso a identificar la especie de la que se trataba, mientras que la caracterización de razas y biotipos se ha realizado mediante bioensayos sobre plantas hospedadoras.

3.4.1. Identificación por morfología y morfometría del cuerpo de los individuos

Para la identificación de las especies de los nematodos aislados se realizan observaciones bajo el microscopio que, en el caso de *Meloidogyne* se basa en la observación del patrón perineal de las vulvas de las hembras, así como en la morfología y morfometría de los juveniles utilizando los índices somatométricos de MAN DE (1880). Los estadios juveniles permiten confirmar la especie puesto que tienen características que son más fáciles de

reconocer y, muchas veces, menos variables que los patrones perineales. Entre ellas están la longitud del cuerpo, la parte hialina de la región posterior, la forma del recto y la posición relativa del poro excretor (WHITEHEAD 1968). En nuestro trabajo, las observaciones fueron realizadas entre 100-1200 aumentos bajo un microscopio óptico Leitz Dialux 22 con contraste de interferencia diferencial y cámara clara incorporados.

3.4.2. Identificación por métodos de biología molecular

El método utilizado fue el análisis del ADN de las hembras mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), dada la elevada capacidad de esta técnica para discriminar las especies bajo estudio y su relativa sencillez de aplicación. Se utilizó como técnica complementaria y confirmatoria para la determinación de las especies de *Meloidogyne*, después de los estudios de morfología y morfometría antes descritos. Para la identificación de *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* se utilizó la técnica descrita por ZIJLSTRA *et al.* (2000), mientras que para identificar *M. hapla* y sus razas (A y B) se aplicó la técnica de WISHART *et al.* (2002). El procedimiento se describe a continuación:

En primer lugar, se procede a la **extracción del ADN**, cuyo origen con esta técnica puede ser tanto de hembras como huevos. En el primer caso, las hembras se extraen de las raíces por dilaceración, mientras que las masas de huevos se toman de la superficie de la raíz. En este trabajo el ADN se obtuvo de hembras las cuales, una vez extraídas de las raíces, se colocaban en un tubo tipo Eppendorf de 1,5 ml con 20 µl de buffer de lisis (1× buffer de PCR + proteasa K, marca Sigma) y se rompían con una aguja. Se dejaban durante 1-2 h en estufa a 65 °C, y a continuación se llevaban a 99 °C en baño María durante 10-15 minutos. Finalmente, los tubos se centrifugaban a 12.000 rpm durante un minuto para que sedimentaran los restos del cuerpo de la hembra y el ADN quedara en el sobrenadante. Estos tubos se conservan en hielo hasta el momento de realizar el PCR.

Las reacciones de **amplificación por PCR** se realizan dentro de tubos tipo Eppendorf de 200 µl, donde se colocaron 10 µl de la suspensión de ADN obtenida y 15 µl de la solución madre, llegando a un volumen final de 25 µl. Esta solución se compone de “primers” (cebadores), enzima taq polimerasa, dNTPs y agua destilada. Una vez preparados los tubos de reacción se llevan al termociclador donde se producen las reacciones de amplificación. Esto ocurre gracias a la alternancia de temperaturas altas y bajas durante cortos períodos de tiempo, las cuales permiten la separación de las cadenas de ADN, la unión de los cebadores y la replicación del fragmento de ADN deseado. La repetición de estos ciclos amplifica el

resultado, finalizando con una etapa de baja temperatura (4 °C) que se mantiene por tiempo indefinido hasta el momento de realizar la electroforesis y posterior observación bajo luz ultravioleta. Los ciclos de temperatura para cada una de las especies analizadas se presentan en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2. Ciclos de temperatura en el termociclador para identificar *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica* por PCR.

| Fase | Temperatura – tiempo (min) | | | |
|----------------------|----------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|
| | <i>M. arenaria</i> | <i>M. hapla</i> | <i>M. incognita</i> | <i>M. javanica</i> |
| Inicial | 94 °C – 3:00 | 94 °C – 3:00 | 94 °C – 3:00 | 94 °C – 3:00 |
| | 94 °C – 0:30 | 94 °C – 0:30 | 94 °C – 0:30 | 94 °C – 0:30 |
| Ciclo | 61 °C – 0:30 | 50 °C – 0:30 | 54 °C – 0:30 | 64 °C – 0:30 |
| | 72 °C – 1:30 | 72 °C – 1:30 | 72 °C – 1:30 | 72 °C – 1:30 |
| Nº ciclos | 35 | 35 | 35 | 35 |
| Final | 72 °C – 10:00 | 72 °C – 10:00 | 72 °C – 10:00 | 72 °C – 10:00 |
| Mantenimiento | 4 °C - ∞ | 4 °C - ∞ | 4 °C - ∞ | 4 °C - ∞ |

Para la realización de la **electroforesis** se agrega azul de bromofenol con glicerol a las muestras (2,5 µl por tubo) y se colocaron en los huecos de un gel de electroforesis de agarosa al 1%, constituido por 100 ml de buffer TBE (Tris-borato-EDTA), 1 g de agarosa y 2 µl de solución de bromuro de etidio (10 mg/ml). La electroforesis se realizó durante 1 hora, al cabo de la cual el gel fue observado bajo luz ultravioleta. En la Tabla 3.3 se presentan los tamaños que deben tener los productos obtenidos para poder identificar las especies (y las razas, en el caso de *M. hapla*), según el cebador y técnica utilizados. En la Fig. 3.4 se muestra una fotografía de los productos de amplificación por PCR.

Tabla 3.3. Tamaño de los productos del PCR que permiten identificar *M. arenaria*, *M. hapla* y sus razas, *M. incognita* y *M. javanica*, según el cebador y la técnica utilizados.

| Especie (raza) | Tamaño del producto (bp) | Técnica de PCR | Cebadores |
|--------------------------|--------------------------|-------------------------------|-------------|
| <i>M. arenaria</i> | 420 | ZIJLSTRA <i>et al.</i> (2000) | Far / Rar |
| <i>M. hapla</i> (raza A) | 700 | WISHART <i>et al.</i> (2002) | 194 / 195 |
| <i>M. hapla</i> (raza B) | 700 + 200 | WISHART <i>et al.</i> (2002) | 194 / 195 |
| <i>M. incognita</i> | 1200 | ZIJLSTRA <i>et al.</i> (2000) | Finc / Rinc |
| <i>M. javanica</i> | 670 | ZIJLSTRA <i>et al.</i> (2000) | Fjav / Rjav |

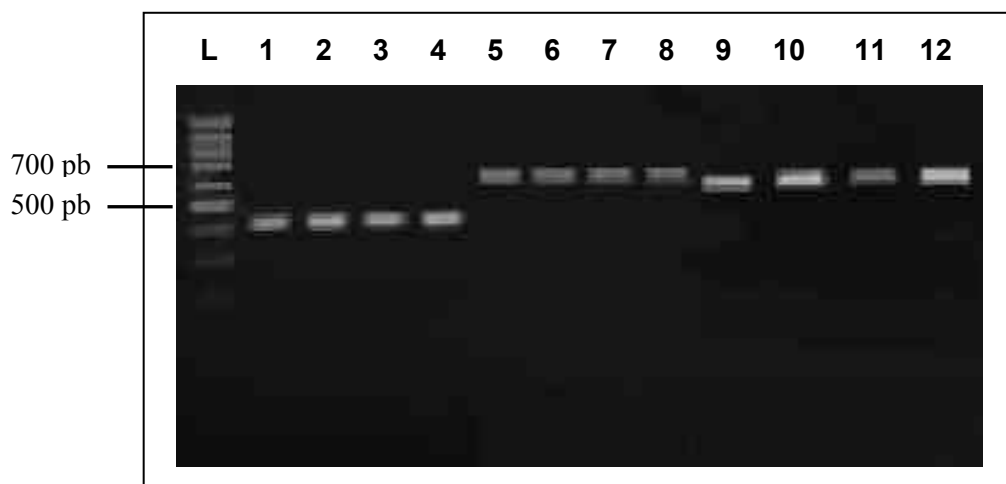


Figura 3.4. Fotografía de los productos de amplificación del ADN de *M. arenaria*: líneas 1-4, *M. hapla*: líneas 5-8 y *M. javanica*: líneas 9-12. L: ADN de referencia.

3.4.3. Identificación de razas y biotipos

Una vez identificadas las especies mediante morfología y morfometría, así como mediante técnicas de biología molecular se procedió a la realización de bioensayos para la identificación de las razas a la vez que se realizaba la caracterización de la virulencia de las poblaciones de *Meloidogyne*. Para ello se extrajeron masas de huevos maduras (de color castaño) de cada población de *Meloidogyne*, de modo que cada una de las repeticiones proviniera de la masa de huevos producida por una hembra. Cada masa de huevos se colocó en un pocillo con agua para posteriormente realizar la inoculación. Luego se prepararon macetas de 300 cm³ con tierra estéril con un mínimo de 4 repeticiones (macetas) por población. En cada maceta se colocó una planta de tomate cv “Marmande” o “Rutgers”, que se conoce que son sensibles a los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* (susceptible a nematodos) con al menos dos hojas verdaderas. Cada maceta fue inoculada con una masa de huevos para obtener “poblaciones puras” (aislados procedentes de una hembra), realizando un pequeño hueco próximo al tallo de la planta y vaciando el pocillo con la masa de huevos con ayuda de un frasco lavador. En algunos casos, cuando sólo se tiene suelo donde se conoce la existencia de *Meloidogyne*, este se utilizó directamente para la obtención de “población original” o “población de campo”. Posteriormente de las plantas noduladas de esa “población original” o de “población de campo” se puede realizar la obtención de una “población pura”. Las macetas se mantuvieron en cámara de crecimiento con temperatura de 25 (± 1) °C y fotoperíodo de 16 h de luz durante al menos 30 días. Una vez transcurrido ese tiempo se extraen de las plantas de la maceta y mediante el índice visual de BRIDGE & PAGE (1980) se realiza el proceso de caracterización de las razas y de la virulencia (Fig. 3.5).

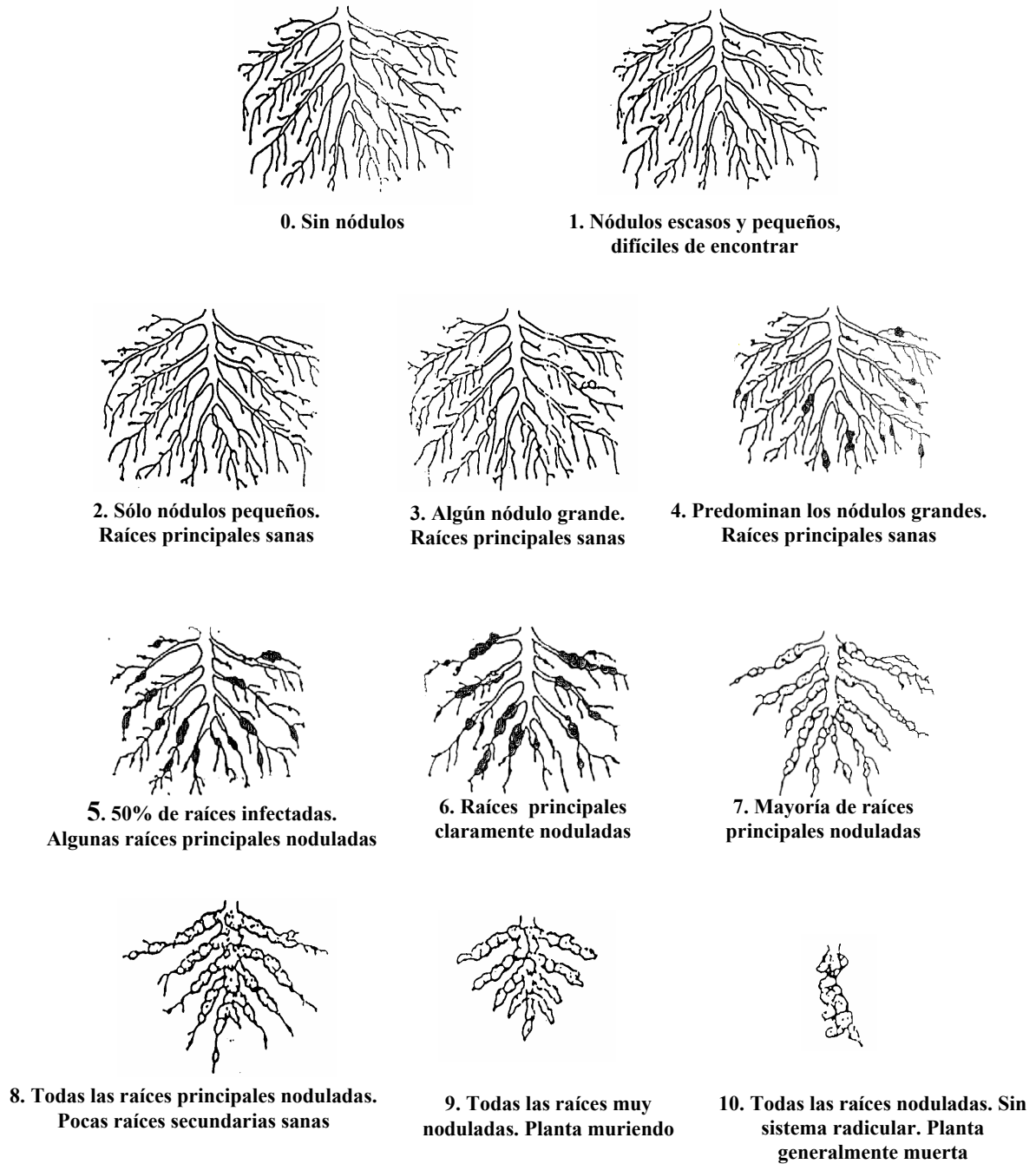


Figura 3.5. Índice visual de nodulación de BRIDGE & PAGE (1980), modificado.

Para la determinación de las razas se utiliza el ensayo de hospederos diferenciales de Carolina del Norte de HARTMAN & SASSER (1985), que incluye como hospedadores: tomate cv “Rutgers”, pimiento cv “Early California Wonder”, tabaco cv “North Carolina 95” (“NC 95”), algodón cv “Deltapine 61” (“DP 61”), sandía cv “Charleston Gray” y cacahuete cv “Florerunner” (Tabla 1.2). Este método no permite realizar una caracterización de la virulencia, puesto que no incluye plantas portadoras de genes de resistencia. La utilización de los bioensayos pese a ser tediosa, es la más eficaz puesto que los métodos de biología molecular disponibles hasta la actualidad no permiten caracterizar la virulencia (TZORTZAKAKIS *et al.* 1999, SEMBLAT *et al.* 2000, SEMBLAT & CASTAGNONE-SERENO 2001, CASTAGNONE-SERENO 2002a,b, ROBERTSON *et al.* 2006), aunque hay que recordar que algunos investigadores parecen haber identificado proteínas o genes asociados a la virulencia de los nematodos (FARGETTE 1988, CASTAGNONE-SERENO *et al.* 1995, 1997, FARGETTE *et al.* 1996, SEMBLAT *et al.* 2001, XU *et al.* 2001).

Debido a que el bioensayo de hospederos diferenciales de Carolina del Norte propuesto por HARTMAN & SASSER (1985) presenta dificultades, puesto que no incluye variedades portadoras de genes de resistencia y a que mediante los métodos de biología molecular disponibles, el grupo de investigación del antiguo Departamento de Agroecología del CCMA (CSIC) diseñó un ensayo de hospederos diferenciales con el fin de poder realizar la caracterización de la virulencia de las poblaciones de nematodos del género *Meloidogyne* frente a las especies hortícolas de mayor interés en España como son el pimiento y el tomate, a la vez nos permitía caracterizar las razas a las que pertenecen. Este test incluye como hospederos diferenciales: tabaco cv “North Carolina 95”, algodón cv “Deltapine 91” (“DP 61”), pimiento cvs “Capino”, “Sonar”, “Early California Wonder” (sensibles, todos con el mismo comportamiento frente a las mismas poblaciones de nematodos del género *Meloidogyne*) y cvs “Charleston Belle”, “Carolina Wonder” o “Atlante” (“C25”) (portadores de genes de resistencia y todos ellos con el mismo comportamiento frente a las mismas poblaciones de nematodos de género *Meloidogyne*), tomate cvs “Marmande” o “Rutgers” (susceptibles ambos, con el mismo comportamiento frente a las mismas poblaciones de nematodos de género *Meloidogyne*) y cvs “Nikita” o “Euphrates” (portadores de genes de resistencia y ambos con el mismo comportamiento frente a las mismas poblaciones de nematodos del género *Meloidogyne*), y sandía cv “Charleston Grey” (Tabla 1.3). En algunos casos se ensayó el comportamiento de las poblaciones de nematodos en relación con fresa cv “Camarosa”, *Tagetes patula*, *Raphanus sativus* cv “Contra” y las batatas cvs “C4”, “TIS 9162”, y “TIS 3290”, la última parece poseer genes de resistencia, debido a que la fresa era uno de los mayores consumidores de BM, se tiene en cuenta también *T. patula* para ayudarnos a diferenciar las razas de *M. hapla*, *R. sativus* cv “Contra” como posible abono

verde para realizar biofumigación en sentido estricto y las batatas como cultivo que puede formar parte de las rotaciones de cultivo propuestas, y sobre todo como una cubierta viva que permita reducir las temperaturas del suelo por ser plantas que cubren rápidamente la superficie, pudiendo actuar también como plantas trampa. La innovación más importante con respecto al método de HARTMAN & SASSER (1985) es el uso de hospederos portadores de genes de resistencia, que permite distinguir entre las poblaciones de nematodos virulentas y avirulentas para las plantas estudiadas. En algunos casos, no se ensayó la sandía y el cacahuete del test de HARTMAN & SASSER (1985), ya que las diferencias que detectan estas plantas se pueden observar también con otros hospederos. Durante los bioensayos, algunos hospederos fueron cultivados de forma reiterada, ya sea porque los resultados obtenidos eran inconsistentes o para confirmar resultados obtenidos anteriormente y sobre todo por mantener las poblaciones, así como para ver qué es lo que ocurre con muchas de ellas al someterlas a la presión de los genes de resistencia. También se reiteró frecuentemente el cultivo de hospederos susceptibles para mantener las poblaciones, de modo que no se perdieran por falta de hospederos adecuados.

3.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIODESINFECTANTE

Se comienza por la determinación *in vitro* con un extracto del biodesinfectante utilizado, para pasar a diseñar los experimentos en laboratorio y una vez obtenidos resultados extrapolarlos en campo.

3.5.1. Determinación *in vitro* de la actividad biofumigante

Se hace una dilución del biodesinfectante, añadiéndose en un primer paso un 100, 50 y 25% sobre un pocillo que contiene individuos vivos de *Meloidogyne incognita* o de *Xiphinema index* que se cubre y se va observando cada hora el número de individuos vivos y muertos, hasta que estén todos muertos. En el caso que la eficacia del 25% fuera completamente eficaz (100% de muertos), se pasa a una segunda fase de diluciones: 10, 5 y 2%, e incluso más bajas, y se repiten las observaciones cada 15 minutos para el caso de *X. index* y de horas para *M. incognita*, pudiendo establecer las intermedias hasta que se determina la dosis óptima. En cada caso, se determina si la acción es nematocida y se debe directamente a la acción de las diluciones, o si es nematostática y se debe a la acción de los gases contenidos en el extracto, destapando los pocillos y en el caso de que se tratase de una nematostasis, los juveniles se recuperarían a los pocos segundos. Debido a la poca movilidad de *Meloidogyne*, la nematostasis se comprueba de forma más eficaz pasándolos a otra placa de Petri con agua destilada. Con los resultados obtenidos se planifican los experimentos siguientes realizados en

suelo bajo condiciones controladas de laboratorio, que nos aportaran la información necesaria para realizar los experimentos en campo.

3.5.2. Estudio en laboratorio de la actividad biodesinfectante en suelo (Fig. 3.6)

Para comprobar la actividad biodesinfectante de un producto antes de diseñar el experimento de campo, se ha puesto a punto una prueba de laboratorio que permite valorar su efectividad y establecer la técnica más adecuada a tal fin. Para realizar esta prueba, se muestrea el área donde se pretende realizar el experimento y se determina la cantidad de nematodos fitoparásitos presentes, especialmente los del género *Meloidogyne*. Una vez comprobada la presencia del nematodo, se coloca en una bolsa de plástico de polietileno transparente con 0,50 kg de suelo infestado. Se realizaron estos ensayos en muestras de tierra bajo condiciones controladas de laboratorio, con el objetivo de poder ajustar las dosis de aplicación en campo. Para empezar a trabajar se emplearon dosis de 1, 2, 3 y 5 ml de vinazas que equivalen a 5.000, 10.000, 15.000 y 25.000 l/ha, con el doble objetivo de evaluar su efecto como nematicida y, al mismo tiempo, determinar la posible existencia de fitotoxicidad al emplear dosis altas del producto.

Para evaluar la eficacia de las vinazas de remolacha y de vino en el manejo de nematodos, se eligieron varios suelos representativos de zonas hortícolas de España que estaban infestados por nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Los suelos seleccionados fueron los siguientes:

- suelo arenoso de pH básico procedente de El Perelló (Valencia)
- suelo franco de pH ligeramente ácido procedente de Villa del Prado (Madrid)
- suelo arcilloso de pH básico procedente de El Campo de Cartagena (Murcia)

Para ello se tomaron muestras de suelos en lugares donde se habían detectado problemas de *Meloidogyne* en los cultivos y se determinó el nivel de infección realizando una extracción de nematodos por el método de centrifugación con azúcar modificado (NOMBELA & BELLO 1983) y observando lo extraído bajo una microscopio estereoscópico Zeiss, modelo Stemi 2000-C, 6,5-50 x. Se estableció la cantidad de juveniles de segundo estadio (J_2) de *Meloidogyne* presentes en la muestra, y los suelos con altos niveles de infestación se seleccionaron para ser sometidos al procedimiento de biodesinfección en laboratorio.

El procedimiento de biodesinfección en laboratorio consta de los siguientes pasos, que se muestran en forma de esquema en la Fig. 3.6.

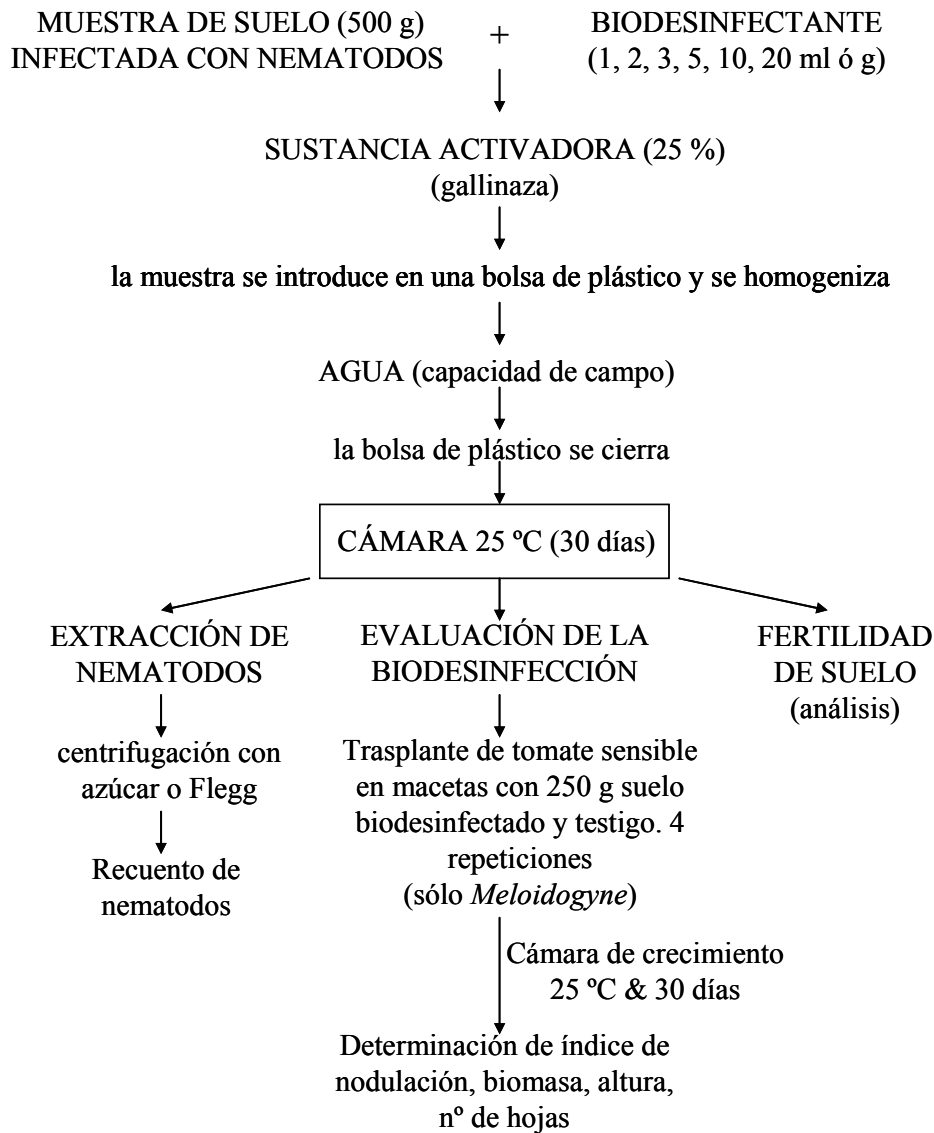


Figura. 3.6. Protocolo de biodesinfección en condiciones de laboratorio (DÍAZ VIRULICHE 2000 modificado).

Se colocan 500 g del suelo infestado con *Meloidogyne* en una bolsa de plástico de polietileno transparente, con cuatro repeticiones por cada tratamiento que se vaya a realizar, incluido el testigo. Se añade la dosis del biodesinfectante a ensayar, que en este trabajo son vinazas de remolacha y de vino procedentes de la industria alcoholera, y se mezclan uniformemente. En

este estudio el material utilizado como biodesinfectante serán vinazas de remolacha. Se añade agua hasta capacidad de campo, homogeneizando la muestra. La bolsa se cierra herméticamente con una goma elástica. En este trabajo al aplicarse las vinazas diluidas no se realizará en este paso.

Las bolsas así preparadas se mantienen en cámara a temperatura controlada (25 °C ó 30 °C, según el ensayo), sin luz, durante 20-30 días, simulando de esta manera las condiciones del tratamiento de biodesinfección. Una vez finalizado este período, cada muestra se separa en tres fracciones para realizar la evaluación del efecto de la biodesinfección sobre las poblaciones de nematodos, las características de la planta y la fertilidad del suelo.

Efecto de la biodesinfección sobre los nematodos. Para el estudio del efecto de la biodesinfección sobre las poblaciones de nematodos, después de finalizado el tratamiento se toman 100 cm³ de cada muestra y se realiza la extracción de los nematodos mediante el método de centrifugación en azúcar (NOMBELA & BELLO 1983). Posteriormente se realiza un recuento bajo microscopio estereoscópico, determinando el número de juveniles de *Meloidogyne* vivos y muertos, así como el de otros grupos de nematodos con valor ecológico como los rhabditidos y doriláimidos, así como de otros organismos de interés, como los enquitreidos. De esta manera no sólo se evalúa el efecto de la biodesinfección sobre los nematodos fitoparásitos, sino también sobre grupos que pueden ser beneficiosos por su función en la descomposición de la materia orgánica o como depredadores de los nematodos fitoparásitos.

Efecto de la biodesinfección sobre características de la planta. Para determinar el efecto que tienen los materiales biodesinfectantes utilizados sobre las plantas de un cultivo realizado después de aplicar un tratamiento de biodesinfección se toma una fracción de suelo de 300 g de cada muestra y se coloca en una maceta identificada con el tratamiento y la repetición correspondiente. Posteriormente en cada maceta se trasplanta una planta de tomate cv “Marmande”, sensible a *Meloidogyne*, de 15 días de edad y con dos hojas verdaderas. Las macetas se llevan a cámara de crecimiento a 25 (\pm 1) °C, con un régimen de 16 h de luz durante 30-40 días para permitir que se complete un ciclo de desarrollo del nematodo. Transcurrido este período, las plantas son evaluadas a través de la determinación de los parámetros siguientes:

- **índice de nodulación**, según el esquema visual de BRIDGE & PAGE (1980) (Fig. 3.5).

- **medición de la biomasa**, número de hojas, altura de la planta desde el cuello hasta el brote apical medido con regla graduada, peso de la parte aérea, peso de la raíz y peso total de la planta medidos con balanza de precisión.

3.5.3. Estudios de la eficacia de la biodesinfección en columnas de lixiviación

Para estudiar la eficacia de control de *Xiphinema index* en condiciones controladas de laboratorio, se propone un método de trabajo en columnas de lixiviación experimentales de 1 m de altura y 14,3 cm de diámetro interior. **Se aplicaron vinazas de remolacha, diluidas al 5%**, en tres columnas, mientras que una cuarta columna, igual a las anteriores, sirvió como testigo (Fig. 3.7).

Las columnas se rellenaron con suelo de viñedo que contenía una población media de 214 indiv./200 cm³ suelo de *X. index*. Se realizó un tratamiento mediante la incorporación de vinazas en una cantidad equivalente a 25 t/ha y, para determinar la dinámica de penetración del producto a lo largo de la columna, se añadió agua en abundancia hasta saturar la columna de tierra y poder obtener lixiviados. Las columnas se extrajeron secuencialmente en el tiempo, la columna 1° se analizó a los 19 días después de haber aplicado las vinazas, la columna 2° a los 31 días y la columna 3° a los 42 días, mientras que el testigo se extrajo a los 37 días.

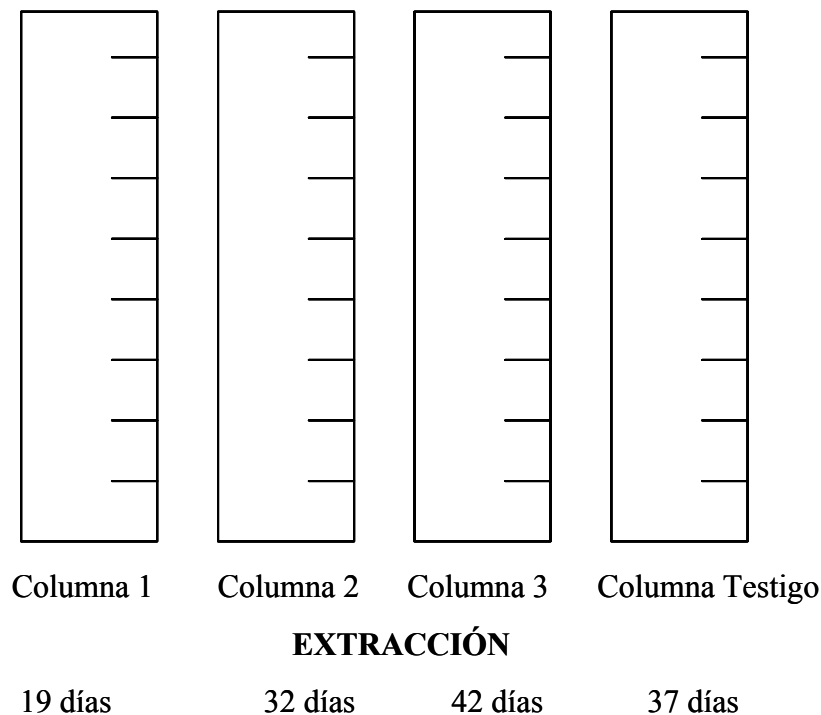


Figura 3.7. Esquema de las columnas de lixiviación utilizadas para el estudio de la eficacia de la biodesinfección a distintas profundidades.

3.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE FERTILIDAD DEL SUELO

Después de la extracción de nematodos y la preparación de las macetas de cada muestra queda una fracción de suelo que se utiliza para determinar el efecto de los biodesinfectantes sobre la fertilidad del suelo. Para ello la fracción de suelo que queda, se deja secar, se muele en un mortero, se guarda en una bolsa, se registra y se envía al laboratorio de análisis de suelos. En este trabajo los métodos de análisis utilizados son los descritos por el antiguo Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación actualmente Ministerio de Medio Ambiente, Rural y Marino (MAPA 1994) y fueron realizados por el laboratorio de análisis químicos del Centro de Ciencias Medioambientales (CCMA). Se determinaron los niveles de materia orgánica (% MO), C_{total} , pH, conductividad eléctrica (CE), de los macronutrientes N_{total} , P_2O_5 , K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Ca^{2+} , así como los micronutrientes Fe, Mn, Cu y Zn. Para la determinación del N_{total} en suelos la extracción se realizó por el método de Kjeldahl, mientras que el P_2O_5 fue extraído con el método de Burriel-Hernando. En ambos casos la determinación se realizó con un equipo marca Technicon, que trabaja con un sistema de colorimetría.

3.7. ESTUDIO DE LA BIODESINFECCIÓN EN CAMPO

Los ensayos experimentales sobre biodesinfección en condiciones de campo se realizaron en un túnel del Centro Experimental Agrario de Marchamalo (Guadalajara) (3.7.1); cultivos de pimiento en invernadero, en una finca experimental en Torre Blanca (Murcia) (3.7.2); hortalizas bajo invernadero comercial en San Isidro (Níjar, Almería) (3.7.3); viñedo de Jumilla (Murcia) (3.7.4); y viñedos de las localidades de Membrilla, Tomelloso y Socuéllamos (Ciudad Real) (3.7.5).

3.7.1. Túnel experimental del Centro Agrario de Marchamalo (Guadalajara)

Se realiza un ensayo para evaluar la eficacia de las vinazas de remolacha en el manejo de *M. incognita* durante las campañas 2005/2006, 2006/2007 y 2007/2008. Se pretende estudiar su efecto tras reiterar su aplicación sobre los mismos suelos durante varias campañas de cultivo siguiendo la rotación acelga durante las estaciones frías y de tomate o pepino durante las más calidas.

Campaña 2005/2006. El experimento se realizó en un campo del Centro de Agrario de Marchamalo (Guadalajara), perteneciente a la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, sobre un suelo arcilloso y básico, bajo túnel de plástico. Consta de cuatro bloques, cada bloque está dividido en cuatro subparcelas de 15 m², por lo que en total se hicieron 16

subparcelas que corresponden a cuatro tratamientos, dos dosis de vinazas de remolacha (0,6 y 1,5 l/m²) combinadas con solarización, otro tratamiento en el que se realizó solarización y un testigo al que sólo se le aplicó agua (testigo blanco), con cuatro repeticiones (Fig. 3.8). Los cultivos que se obtuvieron durante el experimento fueron: acelgas (noviembre-marzo) y, al 50%, tomate y pepino (abril-agosto). Antes de realizar el experimento se comprobó la presencia de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Una vez que se confirmó su presencia se diseñó el experimento.



Figura 3.8. Esquema del experimento en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante la Campaña 2005/2006.

La aplicación de las vinazas se hizo antes de plantar y se acompañó de un riego de 30 mm para favorecer su infiltración en el suelo. Los tratamientos con vinazas se comparan con la solarización y con un testigo, en el cual el suelo sólo se regó. Un mes después de haber realizado el experimento se retiran los plásticos en las parcelas que lo tenían, para posteriormente tomar muestras de suelo para determinar qué es lo que había ocurrido con la nematofauna y la fertilidad del suelo.

En el mes de noviembre se plantaron acelgas cv “Amarillo de Lyon” con un marco de plantación de 0,5 m de separación entre filas y 0,3 m de separación entre las líneas. La recolección se realizó al final del cultivo, pesando toda la producción. En el mes de abril se plantaron tomates cv “Daniela” en la mitad del invernadero, que está orientada al sur, mientras que la otra mitad, orientada al norte, se plantó de pepinos cv “Serena” con un marco de plantación de 0,8 m entre líneas y 0,6 m dentro de las líneas en ambos cultivos. Durante este año no se pudo medir la producción, evaluando sólo los índices de nodulación de cada tratamiento.

Campañas 2006/2007 y 2007/2008. Se continuó estudiando la eficacia de la biodesinfección con vinazas de remolacha en el control de *M. incognita*. Debido a la realización de unas obras en la carretera próxima al túnel experimental, este perdió las subparcelas 15 y 16, por lo que para estas campañas el ensayo se volvió a replantear sobre el terreno, y se cambiaron algunos de los tratamientos, que pasaron a ser dos tratamientos con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m², uno combinado con solarización o cubierto con plástico, otro que no está combinado con solarización y un tercero al cual sólo se le aplicó agua (testigo blanco) (Fig. 3.9). Se desecharon con respecto al año anterior los tratamientos de solarización y el de vinazas a la dosis de 0,6 l/m² debido a que fueron los que peores resultados obtuvieron, sin tener en cuenta el testigo blanco que es con el que se compara. Para la realización del experimento se dividió el túnel en cuatro bloques, cada uno de ellos formado por tres subparcelas de 15 m², manteniéndose en las mismas subparcelas que la campaña anterior el tratamiento con vinazas de remolacha cubierto con plástico, mientras que en el testigo blanco, que es el otro tratamiento que se repite con respecto a la campaña anterior se cambiaron algunas subparcelas (Fig. 3.9). La incorporación de las vinazas de remolacha se hizo después del cultivo de verano de la campaña anterior y se realizó acompañada de un riego de 30 mm para provocar su infiltración en el suelo. Como en campaña anterior, en estas dos campañas se realiza una rotación de cultivos con acelga cv “Amarillo de Lyon” en invierno, con un marco de plantación de 0,8 entre líneas y 0,3 m dentro de la línea y otro cultivo de verano con tomate cv “Daniela” con un marco de plantación de 0,8 entre líneas y 0,6 m dentro de la línea. Ambos cultivares son susceptibles a *M. incognita*.

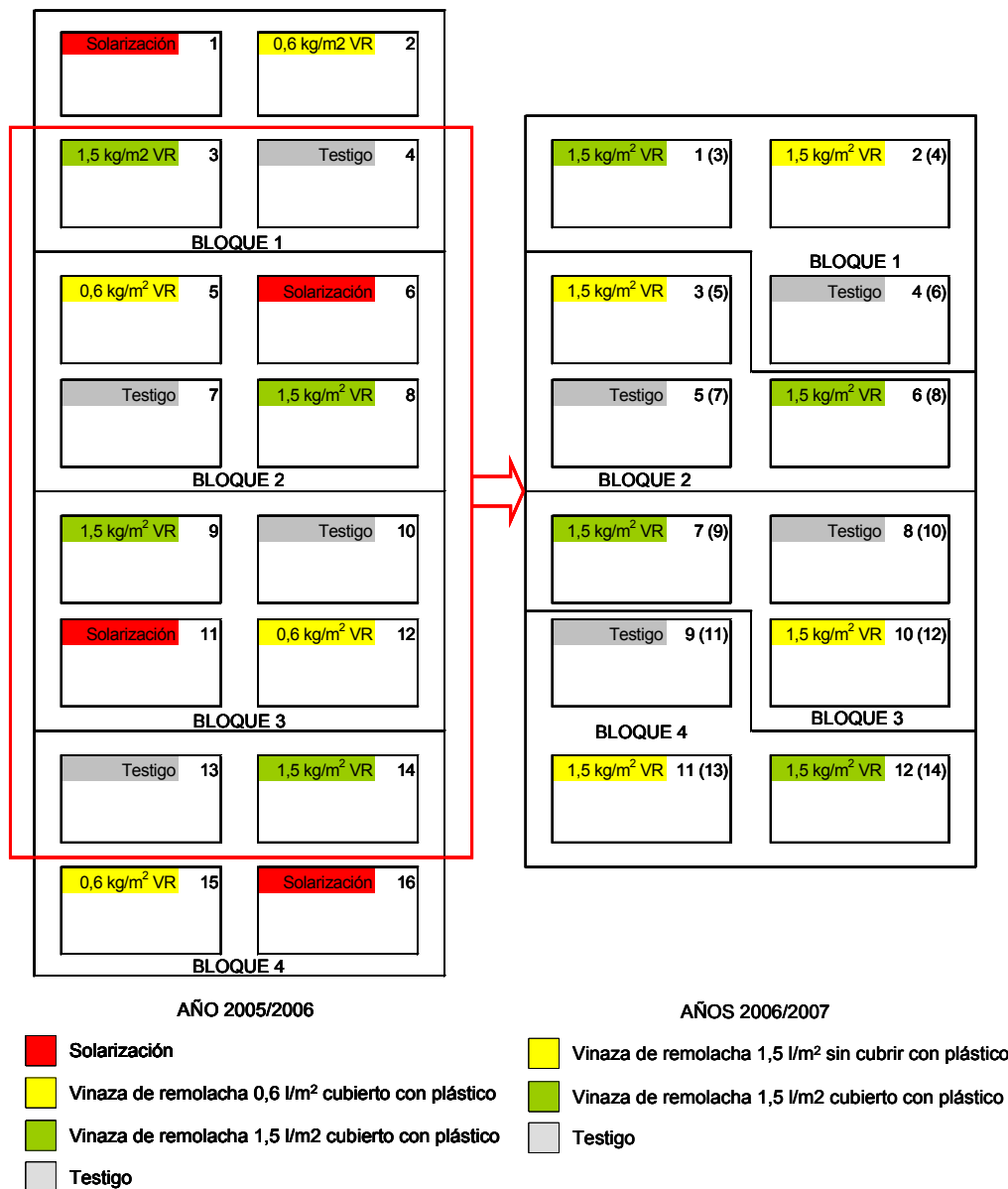


Figura 3.9. Esquema del experimento en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante las Campañas 2006/2007 y 2007/2008.

3.7.2. Pimientos. Ensayo realizado en finca experimental Torre Blanca (Murcia)

El ensayo se realizó en el invernadero experimental CH de la finca de Torre Blanca perteneciente al IMIDA de la Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. El invernadero es de tipo capilla con una superficie de 1000 m² (50 x 20 m), orientado en la dirección Norte-Sur, con ventilación en los laterales de mayor longitud y cenital, además dispone de riego localizado automático. El suelo es franco-arcilloso de pH 7,8 y con un 2% de materia orgánica. En este invernadero desde la campaña 2001/2002, se realizan

desinfecciones no químicas de suelo, dentro de un programa de investigación para la búsqueda de alternativas al BM en el cultivo del pimiento. Dentro de los principales patógenos de origen edáfico por los cuales se utiliza BM en el cultivo de pimiento en España, en el invernadero CH se detectó la presencia de *Meloidogyne incognita*, pero no de *Phytophthora capsici* o *P. parasitica*. Las alternativas ensayadas durante los años para el control de *M. incognita* han sido principalmente solarización y biodesinfección de suelos con estiércol fresco de ovino, combinado con solarización. Los resultados obtenidos siempre se han comparado teniendo como testigo el tratamiento con BM 98:2 a la dosis de 30 g/m².

Para la realización del ensayo, una vez detectada la presencia en el invernadero de *M. incognita*, se optó por continuar con las mismas unidades experimentales existentes en años anteriores, constituidas por 17 subparcelas elementales de ensayo, cada una de las cuales tenía 58 m² (Fig. 3.10). Aquellas subparcelas elementales en las cuales se ensayó la eficacia de la solarización para el control de *M. incognita* durante los años anteriores, que eran ocho, fueron las que se utilizaron para comprobar la eficacia de la biodesinfección de suelos combinada con solarización utilizando vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 kg/m² y vinazas de vino a la dosis de 4 kg/m², con cuatro repeticiones por cada tratamiento respectivamente, mientras que en las parcelas que en años anteriores se había estudiado la eficacia de la biodesinfección del estiércol fresco de ovino combinado con solarización, que estaba formado por seis repeticiones, se utilizaron tres para seguir estudiando la eficacia de estiércol fresco de ovino a la dosis de 2,5 kg/m² y en las otras tres el efecto de la utilización de las vinazas de remolachas a mitad dosis (0,75 kg/m²) mezclada con estiércol fresco de ovino también a mitad dosis (1,25 kg/m²), con tres repeticiones cada una. Las parcelas restantes (tres), tuvieron el tratamiento de BM (98:2) a la dosis de 30 g/m², igual que en años anteriores. Este ensayo tiene como principal objetivo, comparar la eficacia de la biodesinfección de suelos con distintos materiales combinada con solarización con el BM.

Toma de muestras. En el invernadero se estudió una muestra compuesta de cinco submuestras que se recogieron siguiendo un diseño al tresbolillo sobre las dos líneas de pimiento de cada parcela elemental de experimentación, alternando los puntos de muestreo de cada submuestra de una línea a la otra (Fig. 3.11). Las muestras se recogieron después de labrar el suelo con la fresadora. Además se tomaron muestras a dos profundidades distintas, entre 0-20 cm y 20-40 cm para ver cuál es la eficacia a distintas profundidades de los biodesinfectantes y del BM.

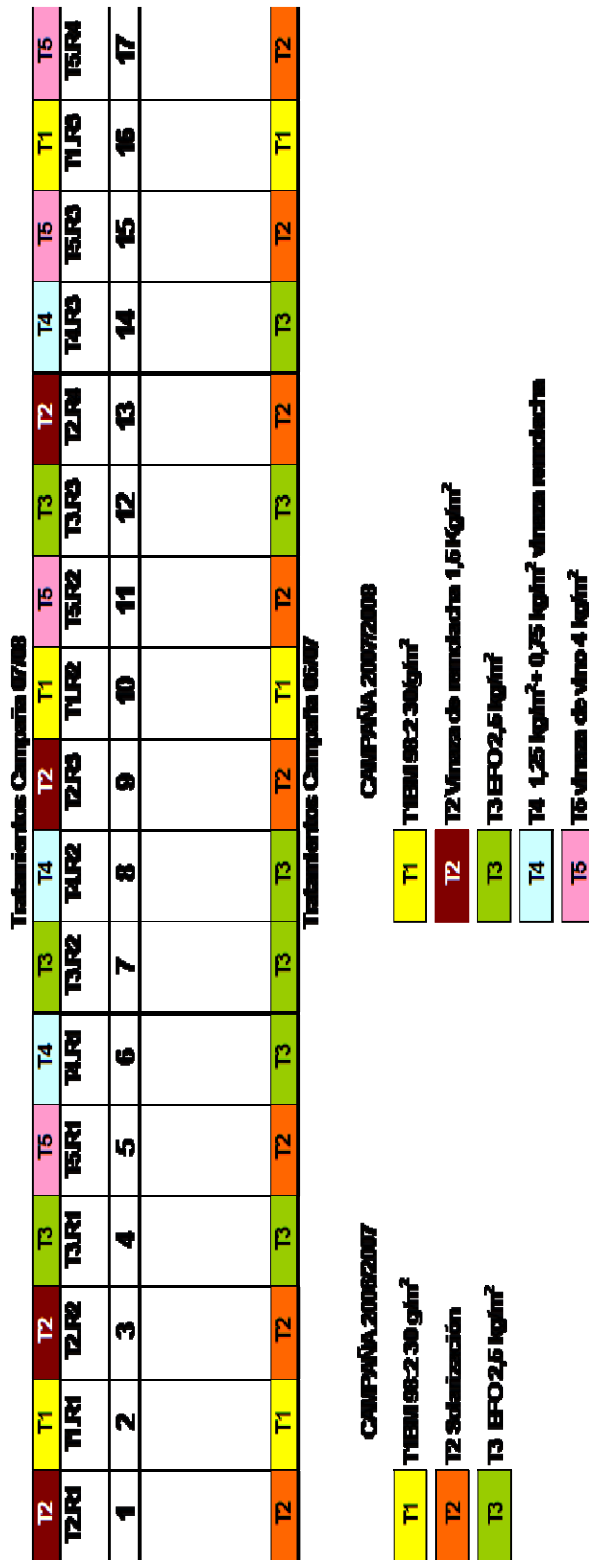


Figura 3.10. Esquema del experimento de campo del cultivo de pimiento, invernadero CH Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia).

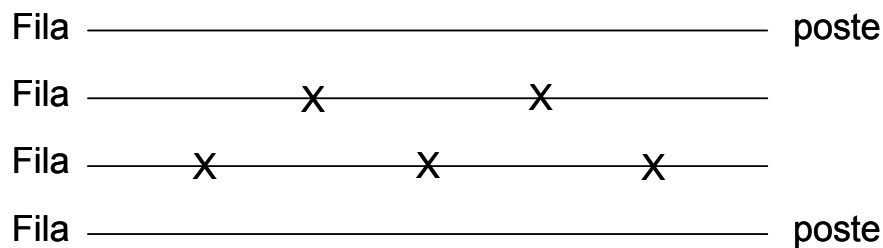


Figura 3.11. Esquema de muestreo del suelo en las líneas de cultivo en cada parcela experimental del invernadero.

Aplicación de los biodesinfectantes. Una vez terminado el cultivo de pimientos anterior se preparó el suelo para la aplicación de los biodesinfectantes mediante un pase de subsolador y otro de fresadora. En las subparcelas en las que se utilizó estiércol fresco de ovino como material biodesinfectante, éste se extendió primero a mano de forma homogénea a las dosis correspondientes y posteriormente se incorporó en el suelo mediante una segunda labor de fresadora. Para la aplicación de los subproductos líquidos como son las vinazas de remolacha y las de vino se utilizó la red de riego incorporando los productos al suelo por medio de los goteros (caudal 3 l/h), que estaban separados entre sí 0,5 m entre líneas y 0,4 m en la lineal. Los biodesinfectantes se introdujeron al sistema de riego desde un depósito auxiliar mediante una bomba sumergible. Antes de la aplicación el suelo se cubrió con un plástico transparente de polietileno de 200 galgas. Se regó primero durante 8 horas para posteriormente incorporar de manera más uniforme las vinazas. Después de su incorporación, se volvió a dar una hora de riego para evitar posibles obstrucciones de las tuberías de riego, y para incorporan en profundidad las vinazas. El experimento comenzó el 10-08-2007 y terminó con la retirada del plástico (10-11-07), 2 meses después. El tratamiento de BM 98:2 a la dosis de 30 g/m² se realizó el 1-12-2007 y se mantuvo sellado con el plástico VIF los seis días siguientes.

Las dosis de producto desinfectante utilizadas fueron las siguientes.

1. **T1.** Bromuro de metilo (98:2) 30g/m² + plástico VIF
2. **T2.** Vinazas de remolacha 1,5 kg/m² + solarización
3. **T3.** Biosolarización. Estiércol fresco de oveja 1,25 kg/m² + solarización
4. **T4.** Vinazas de remolacha 0,75 kg/m² + Estiércol fresco de oveja 1,25 kg/m² + solarización
5. **T5.** Vinazas de vino 4 kg/m² + solarización

Plantación. Tras el tratamiento el invernadero estuvo en barbecho hasta el 27-12-07, se plantaron los pimientos con un marco de plantación de 1 m entre líneas y 0,4 m en la línea. Cada parcela consta de 4 filas de pimientos, tomándose muestras de las dos líneas del centro de la parcela, una tenía pimiento del cv “Almuden” susceptible a *M. incognita* y la otra este mismo cultivar injertado sobre distintos pies resistentes. En el tratamiento con BM las plantas eran todas del cv “Almuden”, no ensayándose ningún portainjertos.

3.7.3. Invernadero comercial en San Isidro de Níjar (Almería)

Se procedió a un diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones tal y como se muestra en la Fig. 3.12. La elección de las parcelas experimentales que componen las repeticiones o bloques se realizó considerando un estudio previo de los índices de nodulación presentes en el invernadero, para posteriormente realizar el retranqueo a toda la superficie del invernadero. Antes de comenzar a realizar el retranqueo se efectuó una limpieza previa de los restos del cultivo anterior, y la retirada de los elementos de acolchado plástico utilizados en el cultivo anterior de sandía, así como de los ramales portagoteros. La carilla se inició retirando la arena de forma mecánica con un apero denominado “carillera” que va acoplado al tractor, evitando en lo posible la mezcla de las capas de suelo y arena. Con una pala trasera de 600 litros de capacidad y de accionamiento manual acoplada al tractor se transportó desde el exterior del invernadero tanto el estiércol como los restos de cultivo mezclados de forma homogénea y se repartieron en las calles limpias de arena para después volver a aportar la arena en las zonas que ya se había repartido la materia orgánica. Esta operación se fue realizando de forma homogénea. Una vez concluida la operación de retranqueo se procedió a la distribución de los ramales portagoteros, colocando los goteros sobre la franja en la que se aplicó la materia orgánica. El plástico de la cubierta fue lavado con objeto de eliminar el encalado empleado para refrigerar el invernadero en los últimos meses de cultivo.

Para mejorar la eficacia de los tratamientos de biodesinfección se realizó el sellado de toda la superficie del invernadero con una lámina de plástico transparente de polietileno de 100 galgas. Tras sellar el suelo con la lámina de plástico se realizó un riego de 48 mm durante 8 horas de forma ininterrumpida (48 mm) inyectando a la vez mediante un Venturi las dosis de vinazas de remolacha y se cerró el invernadero durante los 30 días, no efectuándose ninguna aplicación de agua adicional.

La división de los bloques de parcelas se realizó una vez obtenidos los índices de nodulación del cultivo previo al tratamiento que era de sandía cv “Fashion”. Después del tratamiento se realizó un cultivo de tomate portador del gen Mi cv “Racymo” que duró desde mediados de agosto a finales de febrero y posteriormente un cultivo de pepino cv “Bowling” desde marzo hasta mediados de julio. El análisis de los índices de nodulación (BRIDGE & PAGE 1980) se realizó mediante un muestreo en malla estudiando el 20% de las plantas de invernadero, mientras para el estudio de la producción se pesaron todos los frutos de cada parcela.

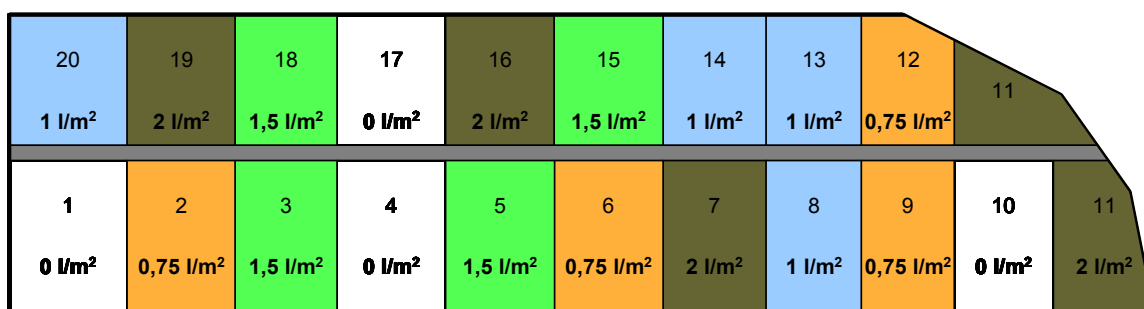


Figura 3.12. Esquema del experimento realizado en el invernadero comercial de San Isidro de Níjar (Almería) con las dosis de vinaza de remolacha utilizada.

3.7.4. Viñedo comercial de Jumilla (Murcia)

El estudio se ha realizado en una finca de viñedo de la Denominación de Origen “Jumilla” (Murcia), situada en el paraje de “La Jimena”, con una extensión aproximada de una hectárea de vid de la variedad “Monastrell” con un marco de plantación de 3 × 3 m. El viñedo presentaba bajas producciones debido a la presencia de gran porcentaje de plantas infectadas por el virus del GFLV y también por la alta presencia de individuos de *X. index*.

La eliminación de las plantas de vid se realizó de forma cuidadosa para tratar de sacar la mayor cantidad de raíces posibles, ya que estas pueden actuar como reservorio de *X. index*. Para ello, en un principio los troncos de las plantas se ataban con una cadena y se tiraba despacio con un tractor, así se conseguía sacar a la superficie la mayor cantidad de raíz posible. Posteriormente se realiza un pase de vertedera, que debido al volteo que ésta realiza en el suelo, lograba sacar a la superficie los restos de raíz que pudieran quedar en el suelo. Por último se realiza un pase con un cultivador para que saque a la superficie los posibles restos de raíz que puedan quedar en el suelo.

Como material biodesinfectante se utilizó estiércol fresco de caprino mezclado con gallinaza (proporción 1:3) a la dosis de 50 t/ha. Primero se repartió de la manera más homogénea posible en toda la superficie de la parcela con un repartidor de estiércol arrastrado por un tractor (Fig. 3.13). Una vez que el estiércol se había depositado por toda la superficie se incorporó en el suelo mediante un pase de fresadora.



Figura 3.13. Aplicación de estiércol a toda la superficie en viñedo de Jumilla (Murcia).

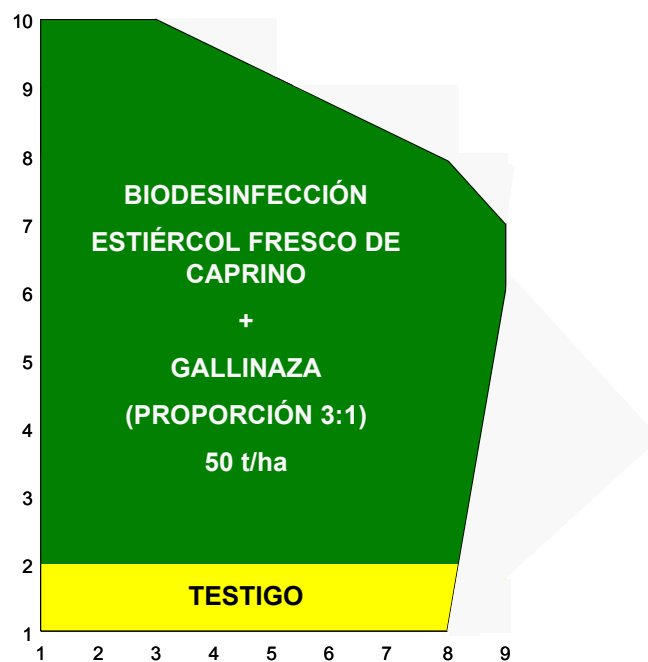


Figura 3.14. Esquema de la viña de “La Jimena”, Jumilla (Murcia).

La toma de muestras se realizó con azada para la profundidad entre 0-30 cm, mientras que para la profundidad de >30 cm se utilizó una sonda cilíndrica de 8 cm de diámetro interior y 25 cm de longitud, procurando tomarlas donde habían estado las plantas de vid, para lo cual se dejó marcada con barras de tetracero de 1 m de longitud cada dos filas por el perímetro exterior de la parcela. Para el estudio de la biodesinfección en profundidad se realizaron ocho perfiles con la ayuda de la pala trasera de una retroexcavadora, hasta los dos metros de profundidad o en su defecto hasta que apareciese la costra calcárea. Una vez abiertos los perfiles se tomaron muestras de suelo cada 10 cm con la ayuda de una pala de jardinero. Al tratarse de un viñedo comercial, no se realizaron repeticiones de los tratamientos, se aplicó estiércol fresco de caprino en la gran mayoría de la parcela quedando una zona testigo que estaba formada por dos filas y dos calles de la antigua plantación (Fig. 3.14)

3.7.5. Viñedos comerciales de Ciudad Real: Membrilla, Tomelloso y Socuéllamos

En el termino municipal de Membrilla (Ciudad Real) se trabajó en un viñedo de la variedad “Airén”, cultivada en vaso, con seis años de edad, plantada tras dos años de barbecho. El riego es por aspersión y el marco de plantación es de 2,5 x 2,5 m. El diseño experimental es de bloques al azar con cuatro repeticiones y tres tratamientos, incluyendo el testigo. Los tratamientos constarán de la aplicación de vinazas de vino a las dosis de 1 y 2 l/m². La parcelas elementales tiene una superficie de 250 m² (Fig. 3.15).

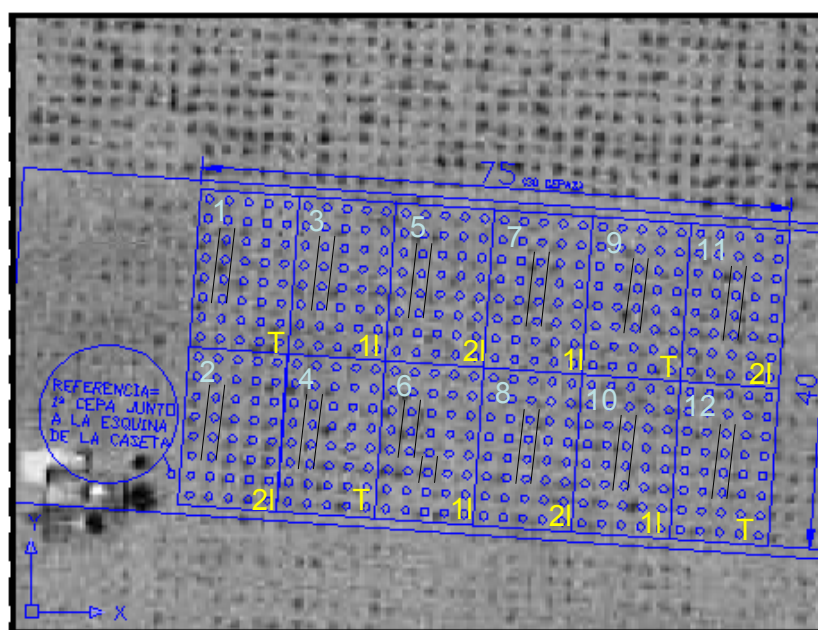


Figura 3.15. Esquema del diseño experimental en la finca de Membrilla (Ciudad Real), T: testigo, 1l: dosis 1 l/m² y 2l: dosis 2 l/m².

En la Fig. 3.15 se indica la distribución de las parcelas y el tratamiento que se aplica en cada una de ellas. Cada círculo azul corresponde a una cepa, de tal modo que cada subparcela tiene una superficie de 5×8 cepas. Se toman como referencia las cuatro cepas centrales de cada una de las subparcelas.

En el término municipal de Socuéllamos (Ciudad Real) se eligió un viñedo con ocho años de antigüedad de la variedad “Cencibel”. La forma de conducción de las plantas es en vaso con un marco de plantación de $2,5 \times 2,5$ m. El riego de la finca es por aspersión. En esta finca se observó no sólo presencia del nematodo transmisor de virus *X. index*, sino también una importante presencia de juveniles de segundo estadio (J_2) del formador de nódulos *M. arenaria*. Se estableció un diseño experimental de bloques al azar y tres tratamientos incluyendo el testigo, con cuatro repeticiones por tratamiento, en este caso un testigo y dos tipos de vinazas, de remolacha y de vino. Cada parcela elemental es de 225 m^2 . Se marcaron cuatro cepas centrales dentro de cada una de las 12 subparcelas tal y como se muestra en la (Fig. 3.16).

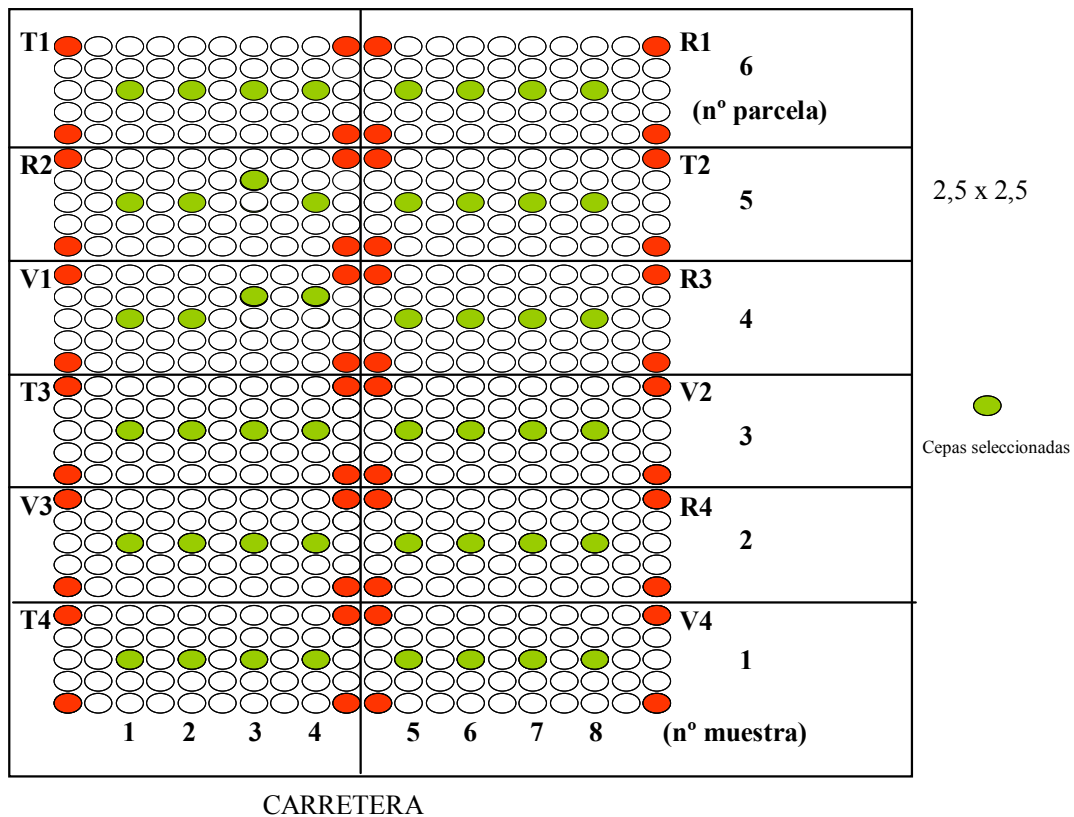


Figura 3.16. Esquema del diseño experimental en la finca de Socuéllamos (Ciudad Real), T: testigo, R: vinaza de remolacha 2 l/m^2 , V: vinaza de vino 4 l/m^2 .

En el término municipal de Tomelloso se eligió un viñedo situado en el paraje de los Arenales de San Gregorio. El viñedo tiene una edad de más de 40 años de edad, la forma de conducción es en vaso y la de la variedad de cultivo “Airen”. El experimento comenzó en invierno de 2006 con la selección de la finca y división en parcelas, cuatro por tratamiento, en este caso un testigo y una dosis de vinaza de vino. Se marcaron en febrero cuatro cepas centrales dentro de cada una de las 8 subparcelas tal y como se muestra en la Fig. 3.17, cada una de ellas de unos 321 m². El marco de plantación es de 2,7 × 2,7 m.

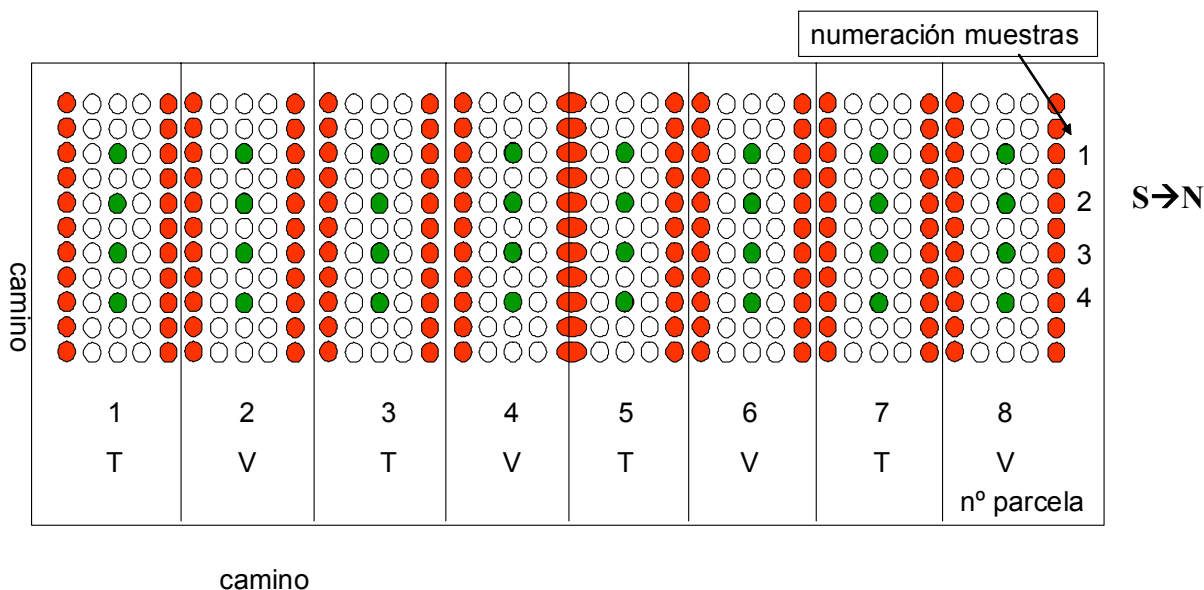


Figura 3.17. Esquema del diseño experimental en la finca de Tomelloso (Ciudad Real), T: testigo y V: vinaza de vino (4 l/m).

Para la aplicación experimental de vinazas en campo se sigue un protocolo que consiste en las fases siguientes:

1. Los depósitos de vinazas se colocan sobre un remolque para su mejor distribución.
2. Se procede posteriormente a la aplicación por el campo a dosis de 1, 2 y 4 l m⁻², según el viñedo en el que se está trabajando, mediante una manguera por gravedad, dosificando en función de la velocidad del tractor y del caudal que proporciona la manguera en cada caso. Todas las parcelas en las que se está trabajando tienen pendientes muy bajas para evitar que se produzca escorrentía del producto. Las vinazas de remolacha se incorporan diluidas al 50% con agua para facilitar su distribución.
3. Posteriormente se aplica un riego de manera que el producto penetre en los 10 primeros centímetros del suelo. Para ello se tienen en cuenta la capacidad de campo del suelo sobre el que se aplica.

La aplicación de las vinazas se realizará preferiblemente cuando las viñas no han comenzado a brotar, es decir durante la primera quincena de marzo, con la excepción del año 2008 que debido a la gran cantidad de lluvias registradas hubo que realizar los tratamientos a mediados del mes de abril, puesto que no se podía pasar a las parcelas con los tractores.

La toma de muestras de suelo se realizó antes y un mes después de realizar los tratamiento. La muestra de suelo se recogía con azada de la zona donde se observaba que estaban la mayor cantidad de raíces secundarias.

3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En este trabajo para establecer diferencias entre medias de series de datos se utiliza el test paramétrico de análisis de la varianza (ANOVA de un factor, test DMS). El ANOVA es un test clásico fundamental para trabajos experimentales, frecuentemente utilizado en Ecología (MARGALEF 1974). Este método estadístico se aplica a factores cuantitativos y pretende averiguar si las diferencias apreciadas entre varios grupos de muestras (o tratamientos) “pueden ser razonablemente atribuidas a simples fluctuaciones debidas al azar o si, por el contrario, son demasiado grandes para que esto sea cierto y traducen necesariamente divergencias reales y significativas” (LAMOTTE 1976). En consecuencia, el ANOVA permite conocer el grado de homogeneidad o heterogeneidad entre las variables comparadas y predecir si pertenecen o no a un mismo universo muestral. De esta manera, es posible analizar las fuentes de variación entre los distintos tratamientos estudiados.

La realización del ANOVA requiere que los datos se ajusten a una distribución normal y que presenten homogeneidad en sus varianzas. Una vez realizado el análisis, el valor de F (distribución de Fisher) permite discriminar, al nivel de significación elegido (p), entre la hipótesis nula ($H_0: \mu_1 = \mu_2$) y la hipótesis alternativa (H_1 : las medias presentan diferencias estadísticamente significativas). Cuando en el análisis intervienen más de dos tratamientos, la hipótesis nula se formula como: $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_n$ y la hipótesis alternativa se define entonces en estos términos: H_1 : al menos dos de las medias presentan diferencias estadísticamente significativas. En este caso debe efectuarse una prueba adicional de comparación de medias (también denominada test de separación de medias, de homogeneidad de medias o de rangos múltiples), que permita discriminar entre tratamientos que presentan o no diferencias estadísticamente significativas. En este trabajo se ha utilizado la prueba de MDS (mínimas diferencias significativas).

Si las series elegidas al azar, independientes, no cumplen los requisitos de las hipótesis de normalidad (normalmente distribuidas) o de homocedasticidad (varianzas homogéneas), o bien los datos muestreados son pocos, como alternativa a ANOVA se pasa a realizar pruebas no paramétricas o de distribución libre, que se basan en los rangos de distribución de la variable. En este trabajo se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para identificar si hay diferencias entre los grupos, y en los casos donde se encontraron diferencias significativas se aplicó la prueba de U de Mann-Whitney con la corrección de Bonferroni para encontrar entre que grupos hay diferencias estadísticamente significativas.

La situación experimental que permite resolver la prueba de Kruskal Wallis es similar a la estudiada a propósito del análisis de varianza de un factor completamente aleatorizado. Las ventajas fundamentales de esta prueba frente al estadístico F del ANOVA son: 1) no necesita establecer supuestos sobre las poblaciones originales tan exigentes como los del estadístico F (normalidad, homocedasticidad), y 2) permite trabajar con datos ordinales. Al igual que las demás técnicas no paramétricas, ésta se apoya en el uso de los rangos asignados a las observaciones (DANIEL 1993). Para este tipo de análisis se utilizó un nivel de confianza del 95%, es decir, que detecta diferencias entre los tratamientos con una significación de 0,05.

Cuando se trata de comparar resultados de un mismo experimento pero en distintas fechas se utiliza como prueba no paramétrica entre series relacionadas la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon.

Los análisis estadísticos se han realizado con el programa SPSS para el entorno WINDOWS (versión estándar 17.0, SPSS Inc. 2007), a partir de matrices de datos elaboradas específicamente para ello.

4. BIODESINFECCIÓN Y RESULTADOS

El uso de distintas fuentes de materia orgánica constituye una alternativa agronómica para el manejo de organismos patógenos de los vegetales de origen edáfico. Su efecto se fundamenta en el efecto biocida o biostático para los organismos patógenos de los procesos y gases resultantes de su descomposición. Se ha comprobado, que por lo general, cualquier resto orgánico puede actuar como biodesinfectante, aunque su eficacia depende de la dosis y del método de aplicación. En este capítulo se analizan los resultados obtenidos de los ensayos realizados, mostrando en primer lugar en el Apartado 4.1 los resultados obtenidos en los ensayos realizados en laboratorio para el manejo de nematodos fitoparásitos, principalmente *Meloidogyne incognita* y *Xiphinema index*; a continuación se exponen las experiencias realizadas en campo en ensayos de biodesinfección utilizando restos agrarios en cultivos hortícolas (4.2) y en viñedo (4.3). Una vez conocidos los resultados del efecto de los restos agrarios sobre las poblaciones de nematodos fitoparásitos se estudian los nutrientes que estos aportan al suelo (4.4) y se describen los biotipos de *Meloidogyne* encontrados al realizar la caracterización de la virulencia de las poblaciones (4.5) con el fin de tener un conocimiento agroecológico sobre el efecto de la biodesinfección de suelos sobre diferentes sistemas de cultivo, así como integrar y armonizar todos los parámetros estudiados para realizar una aproximación a las bases agronómicas que mejoran la eficacia de las técnicas utilizadas.

4.1. ENSAYOS EN CONDICIONES DE LABORATORIO Y MANEJO DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS

En este apartado se presentan los resultados obtenidos para el manejo de nematodos fitoparásitos mediante la utilización de restos agrarios en primer lugar en condiciones *in vitro* utilizando diluciones de **vinazas de remolacha o de vino**, obteniendo a partir de ellas las dosis óptimas para el posterior trabajo en condiciones de suelo y posteriormente en campo. Una vez comprobadas las dosis óptimas en los ensayos *in vitro* se realizan ensayos sobre suelo en condiciones de laboratorio.

4.1.1. Ensayos realizados *in vitro* sobre *M. incognita* y *X. index*

En estos ensayos se sometió a poblaciones de *M. incognita* y de *X. index* a distintas diluciones de subproductos de la industria de la obtención de alcohol como son las vinazas de remolacha y de vino (Figs 4.1-4).

4.1.1.1. Ensayos sobre *M. incognita* con vinazas de remolacha. Se observó que todas las diluciones de vinazas de remolacha ensayadas (1, 3 y 5%) lograban controlar a los juveniles (J_2) de *Meloidogyne* a las 144 horas (6 días) después de haber comenzado el experimento (Fig. 4.1). Además **se comprobó que el efecto no es nematocida, sino que es nematostático**, puesto que cuando se extraían los nematodos de las diluciones y se pasaban a una placa de Petri con agua destilada para poderlos observar bajo el microscopio estereoscópico, en un principio se encontraban todos los individuos paralizados, pero según transcurría el tiempo, algunos de estos individuos adquirían otra vez movilidad. La mortalidad y la posterior movilidad eran mayores según disminuía la dilución.

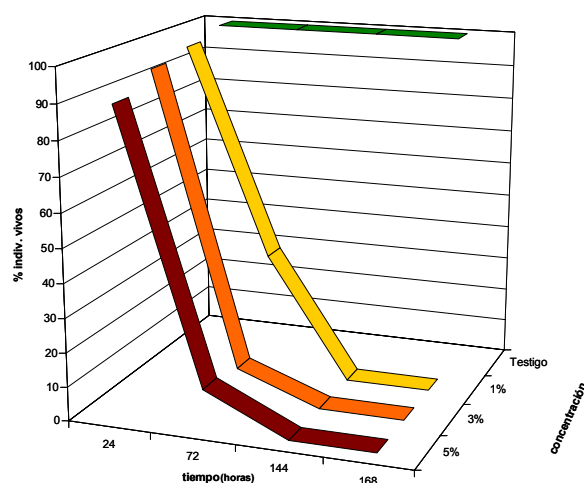


Figura 4.1. Efecto sobre *M. incognita* de concentraciones diferentes de vinazas de remolacha.

4.1.1.2. Ensayos sobre *M. incognita* con vinazas de vino. Se observó que con concentraciones de vinazas de vino diluidas al 5%, el control de nematodos se alcanza pasadas las tres horas de exposición. En los casos de concentraciones más bajas (2 y 1 %) el tiempo para el control se prolonga notablemente (Fig. 4.2), e incluso puede no ser efectivo (0,2%).

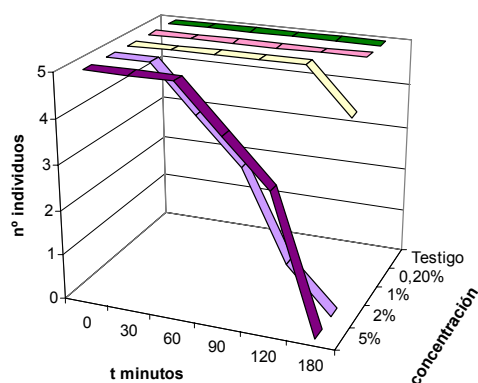


Figura 4.2. Efecto sobre *M. incognita* de concentraciones diferentes de vinazas de vino.

4.1.1.3. Ensayos *in vitro* sobre *X. index* con vinazas de remolacha. Se observó que todas las concentraciones de vinazas ensayadas (5, 2, 1 y 0,5%) lograban controlar a los individuos en un tiempo máximo de 90 minutos, con respecto a un testigo, en el cual permanecieron todos los nematodos vivos durante los ensayos (Fig. 4.3). Con respecto al mismo experimento pero con individuos de *M. incognita* (Fig. 4.1), se observó que los juveniles del nematodo no morían en 90 minutos, sino que algunos, llegaron a sobrevivir casi una semana, aunque al final también se controlaron, de lo cual se puede concluir que el control de *X. index* cuando se utilizan vinazas de remolacha es más eficaz que en el caso de *M. incognita*.

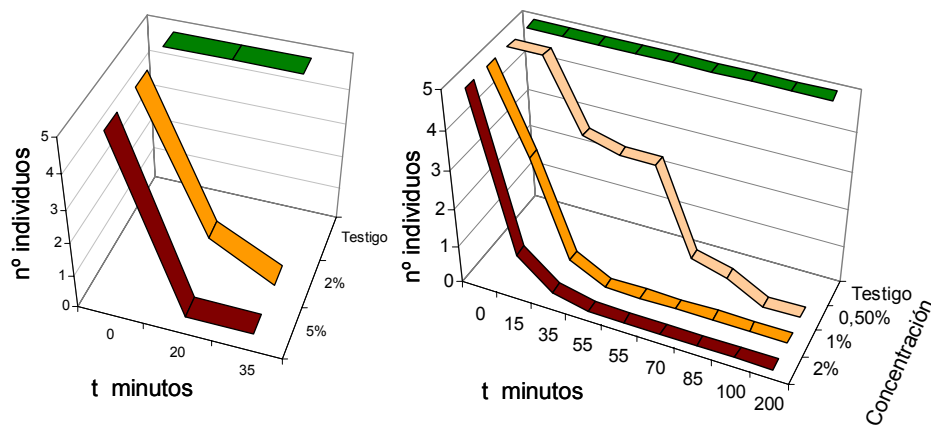


Figura 4.3. Efecto sobre *X. index* de concentraciones diferentes de vinazas de remolacha.

4.1.1.4. Ensayos *in vitro* realizados sobre *X. index* con vinazas de vino. Se observó que a las concentraciones de vinaza de vino al 5 y 2% se controlaba a los nematodos en 45 minutos, mientras que la concentración del 1% a los 55 minutos después de haber iniciado el experimento (Fig. 4.4). **Los individuos no presentan biostasis, puesto que no se recuperan después de tres horas de exposición.** A concentraciones del 0,5%, las vinazas sólo tienen efecto letal a partir de las tres horas de exposición. Los testigos presentan en todos los casos los individuos vivos.

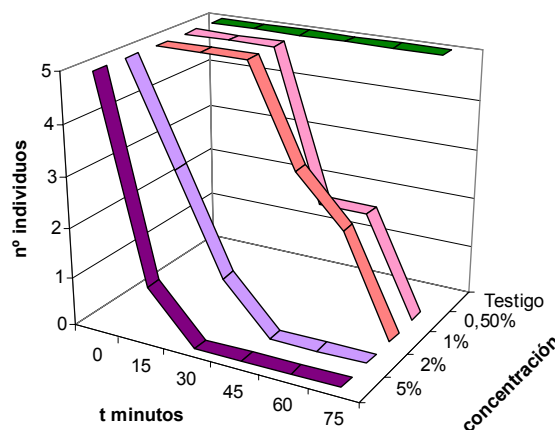


Figura 4.4. Efecto sobre *X. index* de concentraciones diferentes de vinazas de vino.

De los experimentos realizados *in vitro*, se concluye que ambas vinazas de la industria alcoholera pueden controlar tanto a *M. incognita* como a *X. index*, aunque los primeros pueden permanecer vivos durante varios días, lo que plantea que el control de nematodos del género *Meloidogyne* puede presentar mayor dificultad, que el de *X. index*, siendo por lo tanto necesario prolongar la duración del tratamiento en el caso de *M. incognita* con respecto a *X. index*.

4.1.2. Ensayos realizados en condiciones de laboratorio en muestras de suelo

Se trató de extrapolar los resultados de las diluciones obtenidas en los ensayos *in vitro* a dosis en kg/m² o l/m² para comprobar que estas dosis son eficaces para el manejo de nematodos fitoparásitos. Se propusieron las dosis en kg/m² o l/m² debido a que son más fáciles de utilizar en campo, teniendo en cuenta que las densidades de las vinazas a utilizar son aproximadamente de 1,3 kg/l para el caso de las vinazas de remolacha, mientras que para el caso de las de vino son 1,05 kg/l. Una vez que se comprobó la eficacia de estos ensayos se pasará después a experimentar a nivel de campo (Apartado 4.2 y 3). Se seguirá el protocolo del Apartado 3.5.2 para el estudio de *Meloidogyne* (Fig. 3.6), mientras que para el estudio de la eficacia sobre *X. index* con vinazas de remolacha se hizo en columnas de lixiviación (Apartado 3.5, Fig. 3.7). Para el caso de *M. incognita* se confirmaron los resultados realizando ensayos con plantas de tomate cv “Marmande” susceptibles a los nematodos del género *Meloidogyne*.

4.1.2.1. Ensayos sobre *M. incognita* con vinazas de remolacha. Los ensayos se realizaron según el protocolo de biodesinfección de suelos expuesto en el Apartado 3.5 (Fig. 3.6) que nos permite al mismo tiempo determinar su efecto sobre los nematodos, la fertilidad del suelo e influencia sobre la planta. Los experimentos se realizaron utilizando suelos infestados con nematodos, que son representativos de zonas hortícolas de España. Los suelos seleccionados para el estudio de la eficacia de las vinazas de remolacha en el control del nematodo formador de nódulos *M. incognita* fueron los siguientes: (A) suelo franco-arenoso y ligeramente ácido de Villa del Prado (Madrid), (B) suelo arcilloso y básico del Campo de Cartagena (Murcia) y (C) un suelo arenoso y básico de El Perelló (Sueca, Valencia).

A. Eficacia de las vinazas de remolacha sobre un suelo franco arenoso y ligeramente ácido de Villa del Prado (Madrid). Se utilizó un suelo franco arenoso y ligeramente ácido procedente de un invernadero de producción hortícola, que había estado cultivado con tomate. En un análisis previo al ensayo se confirmó que el suelo estaba infestado por *M. incognita*. Un mes después se dio por finalizado el ensayo y se procedió a la toma de resultados (Tabla 4.1).

Las poblaciones de juveniles de *Meloidogyne* no se detectaron en los tratamientos con vinazas de remolacha, existiendo diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo (Tabla 4.1). También se analizó la presencia de otros nematodos del suelo que son indicadores de la calidad biológica de un suelo como pueden ser los doriláimidos, nematodos muy sensibles a las alteraciones edáficas, mientras los rabdítidos y los enquitreidos del grupo de los oligoquetos están asociados a la descomposición de la materia orgánica. Las poblaciones de rabdítidos disminuyen en los tratamientos con vinazas de remolacha encontrándose diferencias estadísticamente significativas con el testigo. Para las poblaciones de doriláimidos y de enquitreidos no se observaron diferencias estadísticamente significativas, siendo las primeras inexistentes en el suelo debido principalmente a que los suelos provenían de un invernadero que se venía desinfectando con productos químicos durante los últimos años.

Tabla 4.1. Poblaciones de nematodos y enquitreidos del experimento realizado en suelo procedente de Villa del Prado (Madrid) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de remolacha (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos | Enquitreidos |
|--------------------------|--------------------------------------|---------------|-----------------|-----------------|
| Testigo | 17,00 ± 5,77 a | 0,50 ± 1,00 a | 27,00 ± 14,83 a | 3,50 ± 4,73 a |
| Vin. de remolacha 3 ml | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 a | 9,00 ± 7,39 a | 3,50 ± 7,00 a |
| Vin. de remolacha 2 ml | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 a | 11,50 ± 3,42 a | 4,50 ± 4,44 a |
| Vin. de remolacha 1 ml | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 a | 84,00 ± 33,82 b | 13,25 ± 17,50 a |
| Significación asintótica | 0,002 | 0,392 | 0,016 | 0,646 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Influencia de la biodesinfección sobre la planta. Tras el cultivo de soja en macetas se evaluó el efecto de las vinazas de remolacha sobre las plantas (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Variables estudiadas en planta de soja del experimento realizado en suelo procedente de Villa del Prado (Madrid) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de remolacha.^(*)

| | Dosis vinazas de remolacha | | | Testigo | Significación asintótica |
|-------------------|----------------------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|
| | 3ml | 2ml | 1 ml | | |
| Índice nodulación | 0,0 ± 0,0 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 1,000 |
| Altura (cm) | 16,0 ± 2,97 a | 14,60 ± 2,27 a | 16,50 ± 2,29 a | 23,00 ± 2,00 a | 0,053 |
| Peso Total (g) | 0,22 ± 0,04 a | 0,32 ± 0,16 a | 0,47 ± 0,48 a | 1,45 ± 0,22 a | 0,059 |
| Peso Tallo (g) | 0,18 ± 0,04 a | 0,26 ± 0,14 a | 0,39 ± 0,42 a | 0,85 ± 0,70 a | 0,738 |
| Peso Raíz (g) | 0,04 ± 0,01 a | 0,07 ± 0,04 a | 0,08 ± 0,08 a | 0,27 ± 0,11 a | 0,057 |
| Nº Hojas | 3,50 ± 0,58 a | 3,60 ± 0,89 a | 3,67 ± 1,16 a | 4,33 ± 0,58 a | 0,486 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En este ensayo no se pudieron plantar tomates cv “Marmande” con dos hojas verdaderas, debido a la presencia de una plaga de ácaros en la cámara de cultivo, por lo que se sembró soja susceptible a los nematodos del género *Meloidogyne*, que se había comprobado en experimentos anteriores (Tabla 4.2). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos parámetros estudiados, sin embargo si que se observó que los valores de los parámetros estudiados disminuyeron según aumentaban las dosis de vinazas de remolacha utilizadas, por lo que parece que esta dosis tiene cierta fitotoxicidad para el cultivo de la soja.

B. Eficacia de las vinazas de remolacha sobre un suelo arcilloso y básico de San Javier (Campo de Cartagena, Murcia). Se trabajó con un suelo arcilloso, básico y con alto contenido en Na^+ asimilable procedente de un invernadero comercial de pimiento del término municipal de San Javier (Murcia) infectado con *M. incognita*, que en el momento de recolección del suelo estaba cultivado con pimiento. A este suelo se le aplicó un tratamiento con vinazas de remolacha a distintas dosis, realizándose la extracción de nematodos 30 días después de que se iniciase el experimento (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Poblaciones de nematodos y enquitreidos del experimento realizado en suelo procedente de El Campo de Cartagena (San Javier, Murcia) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de remolacha (Individuos/100 cm^3 suelo).^(*)

| Tratamiento | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos | Enquitreidos |
|--------------------------|--------------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| Testigo | 1,06 ± 0,71 a | 0,71 ± 0,00 a | 2,62 ± 0,46 a | 1,14 ± 0,50 a |
| Vin. de remolacha 3 ml | 0,70 ± 0,00 a | 0,70 ± 0,00 a | 3,40 ± 0,73 a | 3,12 ± 2,08 a |
| Vin. de remolacha 2 ml | 0,71 ± 0,00 a | 0,71 ± 0,00 a | 4,26 ± 1,08 a | 2,32 ± 1,22 a |
| Vin. de remolacha 1 ml | 0,71 ± 0,00 a | 1,14 ± 0,50 a | 4,75 ± 1,37 a | 1,69 ± 1,23 a |
| Significación asintótica | 0,392 | 0,093 | 0,057 | 0,297 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. Transformación: nueva variable = $\sqrt{x+0,5}$

En este experimento no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el testigo (Tabla 4.3), pero si se observó una ligera disminución en las poblaciones de *M. incognita*. **En este caso las poblaciones de rabdítidos y de enquitreidos fueron mayores en los tratamientos que en el testigo**, observándose además que los enquitreidos no desaparecen del suelo como ocurrió en el experimento anterior sobre un suelo de Villa del Prado cuando se aplicaron vinazas de remolacha (Tabla 4.2).

Influencia de la biodesinfección sobre la planta. Con el resto de suelo que se utilizó en la realización del ensayo se cultivó tomate cv “Marmande” en macetas de 250 g, con cuatro repeticiones por tratamiento (Tabla 4.4). En el ensayo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros estudiados, lo cual **nos indicó que para las dosis estudiadas no existe fitotoxicidad. Por otro lado, los parámetros estudiados presentan valores más elevados en los tratamientos con vinazas de remolacha con respecto al testigo, sobre todo en el peso de las distintas partes de la planta.**

Tabla 4.4. Variables estudiadas en planta de tomate del experimento realizado en suelo procedente de El Campo de Cartagena (San Javier, Murcia) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de remolacha (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| | Dosis vinazas de remolacha | | | Testigo | Significación asintótica |
|-------------------|----------------------------|---------------|---------------|---------------|--------------------------|
| | 3ml | 2ml | 1 ml | | |
| Índice nodulación | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 0,00 ± 0,00 a | 1,000 |
| Altura (cm) | 11,0 ± 2,04 a | 9,0 ± 0,71 a | 9,0 ± 4,95 a | 8,50 ± 1,77 a | 0,473 |
| Peso Total (g) | 1,11 ± 0,82 a | 0,50 ± 0,21 a | 0,36 ± 0,37 a | 0,19 ± 0,00 a | 0,316 |
| Peso Tallo (g) | 1,00 ± 0,75 a | 0,49 ± 0,25 a | 0,33 ± 0,33 a | 0,18 ± 0,02 a | 0,374 |
| Peso Raíz (g) | 0,16 ± 0,05 a | 0,06 ± 0,03 a | 0,05 ± 0,05 a | 0,01 ± 0,01 a | 0,127 |
| Nº Hojas | 8,50 ± 1,29 a | 7,50 ± 0,71 a | 5,50 ± 2,12 a | 7,00 ± 0,97 a | 0,226 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

C. Eficacia de las vinazas de remolacha sobre un suelo arenoso y ligeramente básico de El Perelló (Valencia). Para la realización del ensayo se utilizó un suelo arenoso procedente de un invernadero comercial de producción hortícola, cuyo cultivo anterior fue de verduras chinas. En un análisis previo a la realización del experimento se confirmó que el suelo estaba infectado de nematodos del género *Meloidogyne*. Por otro lado, en otros ensayos tras la realización del bioensayo de HARTMAN & SASSER (1985) se confirmó que la especie presente era *M. incognita*. Un mes después de que se iniciara el experimento se dio por finalizado y se procedió a la toma de resultados (Tabla 4.5).

Se observó un control total de *M. incognita* en los suelos tratados con relación a los testigos que no recibieron ningún aporte de vinazas de remolacha, encontrando en las muestras de suelo tratadas individuos muertos (Tabla 4.5). Con respecto al resto de poblaciones de nematodos y oligoquetos del suelo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos, excepto para el grupo de los doriláimidos, en el que se observó que las poblaciones disminuyeron según se reducían la dosis del biodesinfectante.

Para el grupo de los enquitreidos se pudo observar que las poblaciones desaparecieron en las muestras de suelo tratadas con vinazas de remolacha para todas las dosis estudiadas.

Tabla 4.5. Poblaciones de nematodos y enquitreidos del experimento realizado en suelo procedente de El Perelló (Valencia) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de remolacha (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabditidos | Enquitreidos |
|--------------------------|--------------------------------------|---------------|----------------|---------------|
| Vin. de remolacha 5 ml | 0,00 ± 0,00 b | 1,00 ± 1,16 a | 17,50 ± 6,40 a | 0,00 ± 0,00 b |
| Vin. de remolacha 3 ml | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 a | 7,00 ± 1,16 b | 0,00 ± 0,00 b |
| Vin. de remolacha 2 ml | 0,00 ± 0,00 b | 0,00 ± 0,00 a | 8,00 ± 5,66 ab | 0,00 ± 0,00 b |
| Vin. de remolacha 1 ml | 0,00 ± 0,00 b | 2,00 ± 1,63 a | 0,00 ± 0,00 c | 0,00 ± 0,00 b |
| Testigo | 7,50 ± 1,92 a | 0,50 ± 1,00 a | 11,50 ± 3,00 a | 5,50 ± 5,26 a |
| Significación asintótica | 0.001 | 0.090 | 0.007 | 0.010 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Influencia de la biodesinfección sobre la planta. Para estudiar el efecto de la biodesinfección sobre la planta, se cultivaron en maceta los suelos tratados con tomates cv “Marmande”, sensibles a los nematodos del género *Meloidogyne*. Tras 30 días de cultivo se procedió a la toma de datos (Tabla 4.6).

Tabla 4.6. Variables estudiadas en planta de tomate del experimento realizado en suelo procedente de El Perelló (Valencia) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de remolacha.^(*)

| | Dosis vinazas de remolacha | | | | Testigo | Significación asintótica |
|-------------------|----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|
| | 5 ml | 3 ml | 2 ml | 1 ml | | |
| Índice nodulación | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 1,0 ± 0,82 a | 4,0 ± 1,16 b | 0,002 |
| Altura (cm) | 10,38 ± 2,78 a | 14,25 ± 1,04 a | 14,25 ± 1,55 a | 11,88 ± 2,36 a | 13,38 ± 2,10 a | 0,096 |
| Peso Total (g) | 0,71 ± 0,39 a | 1,17 ± 0,31 b | 1,60 ± 0,50 b | 0,92 ± 0,17 ab | 0,93 ± 0,21 ab | 0,020 |
| Peso Tallo (g) | 0,64 ± 0,39 a | 1,07 ± 0,33 b | 1,49 ± 0,52 b | 0,85 ± 0,18 b | 0,80 ± 0,18 ab | 0,034 |
| Peso Raíz (g) | 0,18 ± 0,02 a | 0,11 ± 0,02 a | 0,10 ± 0,02 a | 0,08 ± 0,01 a | 0,13 ± 0,04 a | 0,149 |
| Nº Hojas | 6,5 ± 1,0 ab | 6,5 ± 0,58 b | 9,0 ± 0,0 b | 8,0 b ± 0,82 b | 5,5 ± 1,29 a | 0,050 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

El tratamiento de 1 ml de vinazas de remolacha, equivalente a 5.000 l/ha, es el único de los tratamientos en los que se aplicaron vinazas de remolacha que presentó plantas infectadas por *M. incognita* observándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo que es el que presenta los índices de nodulación más altos (Tabla 4.6). Sin embargo la detección de juveniles vivos de *Meloidogyne* para las dosis de 1 ml fue nula (Tabla 4.5), por lo que la aparición en plantas infectadas se puede deber a que cuando el producto se utiliza en

dosis bajas no tiene efecto sobre los huevos. Con respecto al resto de parámetros estudiados también se observaron diferencias estadísticamente significativas, excepto para el peso de las raíces, observándose que el tratamiento al que se le aplica la dosis más alta de 5 ml, equivalente a 25.000 l/ha, es el que obtiene los peores resultados, debido posiblemente a la existencia de fitotoxicidad.

De los resultados obtenidos en el experimento (Tablas 4.5 y 4.6) se **pudo concluir que las dosis de 3 y 2 ml, equivalentes a 15.000 y 10.000 l/ha, son las que mejores resultados obtuvieron**, por lo que se proponen intervalos entre estas dosis para futuros trabajos en campo. Como se puede observar en la Tabla 4.6, procedente del suelo de El Perelló, una vez evaluadas las distintas variables de planta se **pudo concluir que las dosis de 2 y 3 ml (10.000 y 15.000 ha) son las más adecuadas para su utilización en campo.**

4.1.2.2. Ensayos sobre *M. incognita* con vinazas de vino. Del mismo modo que se evaluó la eficacia de las vinazas de remolacha sobre la nematofauna del suelo y su influencia sobre las plantas se realizó un estudio similar para el estudio de las vinazas de vino. Los suelos seccionados para el estudio de la eficacia de las vinazas de remolacha en el control del nematodo formador de nódulos *M. incognita* fueron los siguientes: (A) suelo franco-arenoso y ligeramente ácido de Villa del Prado (Madrid) y (B) suelo arcilloso y básico del Campo de Cartagena (Murcia).

A. Eficacia de las vinazas de vino sobre un suelo franco arenoso y ligeramente ácido de Villa del Prado (Madrid). Se utilizó un suelo franco arenoso y ligeramente ácido procedente de un invernadero de producción hortícola, que había estado cultivado con tomate. Antes de comenzar el ensayo se confirmó que el suelo estaba infestado por *M. incognita*. Un mes después del inicio del ensayo se procedió a la toma de resultados (Tabla 4.7).

Tabla 4.7. Poblaciones de nematodos y enquitreidos del experimento en suelo procedente de Villa del Prado (Madrid) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de vino (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabditidos | Enquitreidos |
|--------------------------|--------------------------------------|--------------|-----------------|----------------|
| Vin. de vino 5 ml | 0,0 ± 0,0 a ^(*) | 0,50 ± 1,0 a | 18,50 ± 3,46 a | 2,0 ± 2,31 a |
| Vin. de vino 3 ml | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 14,0 ± 0,0 a | 3,50 ± 2,52 a |
| Vin. de vino 1 ml | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 21,50 ± 6,81 a | 1,0 ± 2,0 a |
| Testigo | 17,0 ± 5,74 b | 0,0 ± 0,0 a | 30,50 ± 12,69 a | 3,50 ± 4,726 a |
| Significación asintótica | 0,002 | 0,392 | 0,059 | 0,535 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.7 se muestran los resultados de las poblaciones de nematodos del suelo inmediatamente después de finalizada la biofumigación. El efecto de la vinaza de vino sobre las poblaciones de nematodos del suelo, disminuyó notablemente las poblaciones de J₂ del nematodo fitoparásito *Meloidogyne*, observándose diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo. Para el resto de poblaciones, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Se observó como las vinazas de vino disminuyeron las poblaciones de rhabdítidos. Las poblaciones de doriláimidos y de enquitreidos son bajas, incluso en el testigo, debido a que en el suelo original se venía fumigando químicamente con anterioridad.

Influencia de la biodesinfección sobre la planta. Para el estudio del efecto de la biodesinfección con vinazas de vino sobre la planta, se cultivaron en maceta los suelos tratados con tomates cv “Marmande”, sensibles a los nematodos del género *Meloidogyne*, utilizando para ello las mismas muestras sobre las que se realizaron los estudios de los nematodos. Tras 30 días de cultivo se procedió a la toma de datos (Tabla 4.8).

Tabla 4.8. Variables estudiadas en planta de tomate del experimento en suelo procedente de Villa del Prado (Murcia) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de vino.^(*)

| | Dosis vinazas de vino | | | Testigo | Significación asintótica |
|-------------------|---------------------------|---------------|---------------|---------------|--------------------------|
| | 5 ml | 3 ml | 1 ml | | |
| Índice nodulación | 0,0 ±0,0 a ^(*) | 0,25 ±0,50 a | 0,0 ±0,0 a | 0,0 ±0,0 a | 0,392 |
| Altura (cm) | 16,0 ±6,0 a | 18,75 ±3,07 a | 17,50 ±6,25 a | 19,38 ±7,43 a | 0,703 |
| Peso Total (g) | 2,55 ±2,54 a | 2,61 ±3,20 a | 1,60 ±2,07 a | 1,15 ±0,64 a | 0,698 |
| Peso Tallo (g) | 1,01 ±0,70 a | 0,80 ±0,56 a | 0,78 ±0,62 a | 0,93 ±0,53 a | 0,911 |
| Peso Raíz (g) | 1,54 ±1,91 a | 1,82 ±2,68 a | 0,82 ±1,46 a | 0,22 ±0,14 a | 0,535 |
| Nº Hojas | 6,50 ±1,73 a | 4,50 ±0,58 a | 5,75 ±2,22 a | 4,25 ±0,50 a | 0,060 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas, por lo que **se consideró que no existió ningún efecto negativo de las dosis de vinaza aplicadas al suelo sobre las plantas.** Se debe indicar que todas las plantas del testigo murieron a los seis días, considerándose que puede ser debido a la presencia de los nematodos del género *Meloidogyne* existentes, por lo que actuaron como cultivos trampa. Al no encontrarse diferencias entre los tratamientos, se consideró que el experimento era de interés para estudiar el efecto fertilizante de las vinazas de vino sobre las plantas (Tabla 4.8).

B. Eficacia de las vinazas de vino sobre un suelo arcilloso y básico San Javier en el Campo de Cartagena (Murcia). El suelo pertenecía a un invernadero con problemas de *M. incognita* del término municipal de San Javier (Murcia), que había sido cultivado con pimiento. Después de mantener el experimento durante un mes en la cámara a 30 °C se dio por concluido el tratamiento y se procedió a la recogida de resultados (Tabla 4.9).

Tabla 4.9. Poblaciones de nematodos y enquitreidos del experimento realizado en suelo procedente de El Campo de Cartagena (San Javier, Murcia) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de vino (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabditidos | Enquitreidos |
|--------------------------|--------------------------------------|---------------|----------------|--------------|
| Vin. de vino 5 ml | 6,50 ± 3,0 a ^(*) | 0,0 ± 0,0 a | 15,50 ± 4,73 a | 2,0 ± 1,63 a |
| Vin. de vino 3 ml | 2,50 ± 1,92 a | 0,50 ± 1,0 a | 12,0 ± 4,32 a | 1,0 ± 2,0 a |
| Vin. de vino 1 ml | 1,0 ± 2,0 a | 1,50 ± 1,92 a | 6,50 ± 6,40 a | 3,0 ± 2,58 a |
| Testigo | 1,0 ± 2,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 6,50 ± 2,52 a | 1,0 ± 1,16 a |
| Significación asintótica | 0,048 | 0,075 | 0,222 | 0,440 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Influencia de la biodesinfección sobre la planta. La influencia de la biofumigación sobre la planta se determinó cultivando tomates cv “Marmande” en los suelos tratados. Los resultados se detallan en la Tabla 4.10.

Tabla 4.10. Variables estudiadas en planta de tomate del experimento sobre suelo procedente de El Campo de Cartagena (San Javier, Murcia) en condiciones de laboratorio después de la aplicación de vinazas de vino.^(*)

| | Dosis vinazas de vino | | | Testigo | Significación asintótica |
|-------------------|----------------------------|----------------|----------------|---------------|--------------------------|
| | 5 ml | 3 ml | 1 ml | | |
| Índice nodulación | 0,0 ± 0,0 a ^(*) | 0,25 ± 0,50 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,392 |
| Altura (cm) | 12,63 ± 6,96 a | 12,25 ± 1,26 a | 16,13 ± 5,39 a | 11,0 ± 2,04 a | 0,495 |
| Peso Total (g) | 0,66 ± 0,54 a | 1,07 ± 0,55 a | 1,05 ± 0,72 a | 1,11 ± 0,82 a | 0,673 |
| Peso Tallo (g) | 0,54 ± 0,48 a | 0,97 ± 0,51 a | 0,94 ± 0,67 a | 1,0 ± 0,75 a | 0,667 |
| Peso Raíz (g) | 0,13 ± 0,09 a | 0,10 ± 0,06 a | 0,12 ± 0,06 a | 0,12 ± 0,08 a | 0,996 |
| Nº Hojas | 8,50 ± 1,29 a | 7,0 ± 0,82 a | 6,25 ± 2,63 a | 8,50 ± 1,29 a | 0,244 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas, por lo que se considera que no hay ningún efecto negativo de las dosis de vinaza aplicadas al suelo sobre las plantas (Tabla 3.10). La significación asintótica de estos resultados posee un valor alto lo cual nos indica que para este experimento no hay diferencias entre los tratamientos.

4.1.2.3. Ensayos sobre *Xiphinema index* con vinazas de remolacha. Este ensayo se realizó en columnas de lixiviación tal y como se describe en el Apartado 3.5.3. La dosis de vinazas aportada fue de 25 t/ha, incorporándose diluidas en agua destilada. En este ensayo, se pudo observar que el control de *X. index*, en relación con el testigo, se producía en los diferentes niveles de profundidad de la columna y se comprobó, además, que según transcurría el tiempo (máximo 41 días), el control del nematodo fue aumentando siendo al final prácticamente total a lo largo de todas las profundidades estudiadas de la columna (Tabla 4.11). Se observó que a las profundidades entre 20-40 cm es donde más individuos se encontraban vivos en las columnas 2 y 3. Por otro lado, a pesar de que los análisis se realizaron por el método de FLEGG (1967), se observó la presencia de individuos que están muertos. Estos individuos lograron pasar las mallas de los tamices pero posteriormente perdieron la vida. Este fenómeno se confirma con la Columna 3 donde la presencia de individuos muertos es mínima.

Tabla 4.11. Efecto de las vinazas de azucarera sobre las poblaciones de *X. index* a diferentes profundidades en las columnas de suelo procedente de un viñedo de Jumilla (Murcia) (Individuos/200 cm³ suelo).

| Profundidad (cm) | Columna | | | | | | | |
|---------------------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|-------------------|---------|
| | 1° (19 días) | | 2° (31 días) | | 3° (42 días) | | Testigo (37 días) | |
| | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos | Vivos | Muertos |
| 0-5 | 6 | 34 | 0 | 0 | 0 | 0 | 215 | 0 |
| 5-10 | 2 | 95 | 0 | 0 | 0 | 0 | 135 | 0 |
| 10-20 | 0 | 103 | 2 | 2 | 4 | 0 | 167 | 0 |
| 20-30 | 7 | 40 | 5 | 2 | 4 | 0 | 305 | 0 |
| 30-40 | 4 | 30 | 5 | 2 | 5 | 2 | 152 | 0 |
| 40-50 | 7 | 19 | 1 | 0 | 2 | 0 | 281 | 0 |
| 50-60 | 23 | 21 | 2 | 1 | 2 | 0 | 263 | 0 |
| 60-70 | 2 | 1 | 3 | 1 | 2 | 0 | 320 | 0 |
| 70-80 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 353 | 0 |
| 80-90 | 2 | 1 | 2 | 1 | 4 | 0 | 386 | 0 |
| Grava | 29 | 3 | 17 | 0 | 7 | 0 | 33 | 0 |
| Lixiviado | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 17 | 0 |

Se puede concluir que las vinazas de remolacha pueden ser un desinfectante potencial de suelo en la replantación del viñedo, alcanzando incluso su eficacia hasta un metro de profundidad, siempre que se consiga una situación que permita que las vinazas aplicadas descendan a los diferentes niveles del suelo. Se observó que la eliminación es prácticamente total, quedando en determinados casos algunos individuos, lo cual se puede deber a que se ha observado que cuando los juveniles estaban realizando la muda eran más resistentes a cualquier tipo de tratamiento, aunque en esos casos pierdan la facultad de transmitir virus. Se observó cuando se analizaron las columnas testigo que la proporción de juveniles era mayor que la de adultos. Esta observación nos permite afirmar que los tratamientos contra *X. index* se deben de realizar cuando las poblaciones

tienen una mayor proporción de individuos adultos, que suele ser a finalizar el invierno y comenzar la primavera. Además se pudo observar que en la columna 1º aparecen en las primeras profundidades individuos muertos, mientras que en el resto de las columnas no aparecen individuos muertos, esto se debe a que en la columna 1º los nematodos podían tener una pequeña movilidad y poder pasar el tamiz de extracción y morir en el recipiente de recogida, mientras que en las columnas 2º y 3º los nematodos no estaban con vida y no podían pasar al recipiente de recogida de la extracción.

4.2. ENSAYOS EN HORTÍCOLAS BAJO PLÁSTICO EN CAMPO

En este apartado se estudió el efecto de la biodesinfección en el manejo de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en las experiencias realizadas con vinazas de remolacha durante tres campañas de cultivo un túnel del Centro Agrario de Marchamalo (Guadalajara) (4.2.1), en un invernadero experimental de pimiento en la Finca Experimental Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) (4.2.2) y en un invernadero comercial en Níjar (Almería) (4.2.3).

4.2.1. Control de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en Marchamalo (Guadalajara)

Se realizó un ensayo para evaluar la eficacia de las vinazas de remolacha en el manejo de *M. incognita* durante las campañas 2005/2006, 2006/2007 y 2007/2008. Se pretendió estudiar su efecto tras su aplicación reiterada sobre los mismos suelos durante varias campañas de cultivo siguiendo la rotación acelga durante las estaciones frías y tomate o pepino durante las más cálidas. El ensayo se realizó en un túnel experimental del Centro Agrario de Marchamalo (Guadalajara) perteneciente a la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha. El ensayo va dirigido al estudio de las vinazas de remolacha como desinfectantes de suelo.

A. Campaña 2005/2006. Durante esta campaña se evaluó la eficacia de dos dosis de vinazas de remolacha, comparadas con un tratamiento de solarización y un testigo al que sólo se le aplicó agua, con cuatro repeticiones cada uno. El suelo del invernadero era arcilloso mezclado con arena de río en los primeros 20 cm. En un análisis previo a la realización del experimento se confirmó que el suelo estaba infestado por *M. incognita* (Tabla 4.12). Un mes después del inicio del ensayo se procedió a la toma de resultados. En primer lugar, se confirmó la presencia de especies de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Los resultados obtenidos se pueden observar en la el Tabla 4.12.

Tabla 4.12. Poblaciones de nematodos y enquitreidos (Individuos/100 cm³ suelo) antes de comenzar el experimento en el túnel de Marchamalo (Guadalajara).^(*)

| Tratamiento | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos | Enquitreidos |
|--|---------------------------------------|----------------|-----------------|---------------|
| Testigo | 61,0 ± 102,51 a | 2,50 ± 3,89 a | 77,40 ± 60,11 a | 0,97 ± 1,63 a |
| Solarización | 13,00 ± 27,33 a | 1,40 ± 1,85 a | 59,50 ± 29,69 a | 1,75 ± 2,84 a |
| Vinazas de remolacha 0,6 l/m ² + solarización | 28,40 ± 82,64 a | 4,50 ± 6,83 a | 64,60 ± 52,13 a | 0,0 ± 0,0 a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² + solarización | 29,50 ± 55,50 a | 2,70 ± 3,511 a | 46,80 ± 29,10 a | 1,10 ± 1,55 a |
| Significación asintótica | 0.373 | 0.316 | 0.359 | 0,177 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En el ensayo partimos de condiciones estadísticamente semejantes (Tabla 4.12). Al comienzo de los años de la experimentación no existen diferencias estadísticamente significativas entre los bloques de parcelas elegidos al azar para realizar el ensayo. Posteriormente se realizaron los tratamientos (13-8-05), y tras un mes y 13 días de duración (26-9-05) se procedió a la retirada de los plásticos en las parcelas en las que estos estaban y se realizó una nueva toma de muestras para el estudio de la influencia de las distintas dosis de vinazas de remolacha junto con el efecto del plástico en los distintos tratamientos (Tabla 4.13).

Tabla 4.13. Poblaciones de nematodos y enquitreidos después del periodo de biodesinfección de la campaña 2005/2006 en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos ^(**) | Rabdítidos | Enquitreidos |
|--|------------------|---------------------------------------|------------------------------|---------------|--------------|
| Testigo | 0-20 | 49,30 ± 86,41 | 1,10 ± 1,89 | 46,10 ± 39,48 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 16,90 ± 27,91 | 0,0 ± 0,0 | 7,30 ± 5,67 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 33,10 ± 65,47 | 0,55 ± 1,43 | 26,70 ± 34,07 | 0,0 ± 0,0 |
| | | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 2,20 ± 6,90 | 0,0 ± 0,0 | 6,50 ± 10,44 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 4,20 ± 7,84 | 0,0 ± 0,0 | 8,45 ± 19,28 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 3,20 ± 7,36 | 0,0 ± 0,0 | 7,48 ± 15,34 | 0,0 ± 0,0 |
| | | b | b | b | a |
| Vinazas de remolacha 0,6 l/m ² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,10 ± 0,45 | 3,80 ± 10,07 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 0,40 ± 1,39 | 0,10 ± 0,45 | 7,80 ± 15,96 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 0,20 ± 0,99 | 0,10 ± 0,44 | 5,80 ± 13,33 | 0,0 ± 0,0 |
| | | c | ab | c | a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 2,30 ± 8,93 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,80 ± 1,64 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 1,55 ± 6,38 | 0,0 ± 0,0 |
| | | c | b | c | a |
| Significación asintótica | | 0,000 | 0,000 | 0,001 | 1,000 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

En la Tabla 4.13 se pueden observar los resultados obtenidos después de realizar el experimento de biodesinfección del suelo. Con respecto a los nematodos fitoparásitos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, se encontraron diferencias estadísticamente entre los distintos tratamientos, siendo los más eficaces en el control aquellas parcelas que llevaban incorporadas vinaza de remolacha, con respecto a las parcelas testigo y a las de solarización. Se observó que con la dosis más elevada de las dos utilizadas (1,5 l/m²), no se detectaron formas juveniles, mientras que en la dosis inferior (0,6 l/ m²) se detectó su presencia en profundidad, por lo que aunque no existan diferencias estadísticamente significativas entre ambos, se puede confirmar que la dosis mayor tuvo más eficacia, sobre todo en profundidad, donde es más difícil la eliminación de los nematodos. Con respecto a las parcelas en las que se realizó solarización, se confirmó que **la solarización no es una alternativa para el manejo de nematodos tan eficaz como cuando se combina con la aplicación de materia orgánica, en este ensayo en forma de vinazas de remolacha.** Además se confirmó que en los tratamientos con solarización, los nematodos migran verticalmente en profundidad por efecto del calor, puesto que en este tratamiento las poblaciones son mayores entre 20-40 cm. Con respecto a las demás grupos de nematodos del suelo se puede observar, en un principio que la presencia de nematodos del grupo de los doriláimidos en profundidad es nula, por lo que existen diferencias significativas en profundidad entre todos los tratamientos y que todos los tipos de tratamiento utilizados en este experimento reducen sus poblaciones con respecto a los análisis realizados anteriormente (Tabla 4.12), confirmando su presencia en una parcela aislada del tratamiento con vinazas de remolacha a la dosis menor de las aplicadas. Se observó también, que los tratamientos que utilizaron como biodesinfectante vinazas de remolacha redujeron las poblaciones de rabdítidos, aunque no las eliminaron, como puede ocurrir con los fumigantes como el BM (Tabla 4.39).

A principios del mes de noviembre (6-11-05) se procedió a la plantación del acelgas, cultivo que se suele implantar durante la época invernal en la zona centro de España en los sistemas de producción bajo cultivo protegido. El 8-3-06 se recogió la producción total y se procedió a la recogida de muestras de suelo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los tratamientos con respecto a los grupos de nematodos y oligoquetos estudiados (Tabla 4.14). **Prácticamente sólo se detectó la presencia de *M. incognita* en los testigos, aunque en poblaciones muy bajas, debido a que estos se podían encontrar en el interior de la raíz de la acelga, aunque posteriormente no se encontraron plantas noduladas.** La temperatura es fundamental para que se produzca el desarrollo de *M. incognita* en la raíz y puedan observarse los síntomas característicos de la infección (Tabla 4.15), disminuyendo por lo tanto las poblaciones en suelo. Se debe destacar, que en el grupo

de los rhabdítidos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, produciéndose una recuperación de la población, que había disminuido después de la desinfección (Tabla 4.12).

Tabla 4.14. Poblaciones de nematodos y enquitreidos después cultivo de acelgas en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) en la campaña 2005/2006 (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos ^(**) | Rabdítidos | Enquitreidos |
|--|------------------|---------------------------------------|------------------------------|---------------|--------------|
| Testigo | 0-20 | 4,50 ± 9,00 | 2,50 ± 1,92 | 16,00 ± 12,96 | 4,50 ± 4,44 |
| | 20-40 | 15,00 ± 17,63 | 1,00 ± 1,16 | 18,50 ± 7,72 | 2,50 ± 3,00 |
| | Media | 9,75 ± 14,12 | 1,75 ± 1,67 | 17,25 ± 9,97 | 3,50 ± 3,67 |
| | | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 18,00 ± 26,98 | 1,00 ± 2,00 |
| | 20-40 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 5,75 ± 2,06 | 0,50 ± 1,00 |
| | Media | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 11,88 ± 18,89 | 0,75 ± 1,49 |
| | | a | b | a | a |
| Vinazas de remolacha 0,6 l/m² + solarización | 0-20 | 0,00 ± 0,00 | 0,50 ± 1,00 | 17,00 ± 13,90 | 1,50 ± 1,92 |
| | 20-40 | 0,50 ± 1,00 | 0,00 ± 0,00 | 15,00 ± 17,09 | 1,00 ± 2,00 |
| | Media | 0,25 ± 0,71 | 0,25 ± 0,71 | 16,00 ± 14,46 | 1,25 ± 1,83 |
| | | a | b | a | a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m² + solarización | 0-20 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 4,50 ± 6,61 | 1,50 ± 3,00 |
| | 20-40 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 5,00 ± 5,03 | 0,00 ± 0,00 |
| | Media | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 4,75 ± 5,45 | 0,75 ± 2,12 |
| | | a | b | a | a |
| Significación Asintótica* | | 0,071 | 0,003 | 0,055 | 0,146 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

También se estudió la influencia de los tratamientos sobre las planta, como fueron el índice medio de nodulación de los tratamientos, la producción del cultivo, así como la clorofila generada por las plantas. Además se estudió una aproximación de la influencia de los tratamientos sobre la flora arvense que acompaña al cultivo, teniendo en cuenta la superficie y vigor que tenían estas.

Tabla 4.15. Variables estudiadas en planta en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) tras el primer cultivo de acelga.^(*)

| Tratamiento | Índice medio de nodulación | Producción (kg/m ²) | Clorofila | Índice mh ^(**) |
|--|----------------------------|---------------------------------|-----------|---------------------------|
| Testigo | 0,1 b | 4,28 a | 29,16 a | 2,50 b |
| Solarización | 0 a | 5,99 a | 25,31 a | 1,00 a |
| Vinazas de remolacha 0,6 l/m² + solarización | 0 a | 7,96 a | 27,39 a | 0,50 a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m² + solarización | 0 a | 6,93 a | 28,73 a | 0,75 a |

^(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**) Índice de flora arvense.

Sólo se observaron plantas con los síntomas de la enfermedad producidas por *Meloidogyne* en el testigo (Tabla 4.15). Con respecto a la producción se observó que los valores obtenidos fueron mayores en los tratamientos en lo que se había realizado biodesinfección de suelos el suelo con vinaza de remolacha. Se incluye en estos resultados un índice de flora arvense (Índice de mh), en el que se intentó determinar cuál era el nivel de infestación de ésta. Se observó que los niveles eran menores en los tratamientos con vinazas de remolacha que en los demás tratamientos, por lo que **además se confirmó que las vinazas de remolacha pueden tener efecto herbicida**. Con respecto al índice de nodulación se observaron diferencias estadísticamente significativas con el testigo, a pesar de que son índices testimoniales que no causan problemas en campo.

El 12-4-06 se plantó la segunda hoja de la rotación de cultivos, que en este caso fue de pepino cv “Serena” y de tomate cv “Daniela”, ambos susceptibles a los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Cuando terminó el cultivo se estudiaron distintos parámetros tanto en el suelo como en las plantas (Tablas 4.16 y 17).

Tabla 4.16. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) al final del segundo cultivo de tomate y pepino (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos ^(**) | Rabditidos | Enquitreidos |
|---|------------------|---------------------------------------|------------------------------|---------------|---------------|
| Testigo | 0-20 | 222,50 ± 98,47 | 14,00 ± 14,70 | 66,50 ± 57,65 | 3,00 ± 4,76 |
| | 20-40 | 116,50 ± 96,42 | 8,50 ± 7,55 | 78,50 ± 98,20 | 0,00 ± 0,00 |
| | Media | 169,50 ± 106,54 | 11,25 ± 11,21 | 72,50 ± 74,82 | 1,50 ± 3,51 |
| | | a ^(**) | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 158,00 ± 76,86 | 19,33 ± 12,06 | 99,33 ± 80,56 | 22,00 ± 38,11 |
| | 20-40 | 50,00 ± 61,03 | 8,00 ± 8,72 | 20,67 ± 6,43 | 0,67 ± 1,16 |
| | Media | 104,00 ± 85,74 | 13,67 ± 11,27 | 60,00 ± 66,85 | 11,33 ± 26,79 |
| | | a | a | a | a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² + solarización | 0-20 | 115,33 ± 125,26 | 4,67 ± 1,16 | 62,67 ± 60,74 | 5,33 ± 6,11 |
| | 20-40 | 20,67 ± 9,45 | 4,00 ± 4,00 | 22,67 ± 8,33 | 0,00 ± 0,00 |
| | Media | 68,00 ± 94,87 | 4,33 ± 2,66 | 42,67 ± 44,54 | 2,67 ± 4,84 |
| | | a | a | a | a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² + solarización | 0-20 | 17,00 ± 26,61 | 6,50 ± 2,52 | 42,00 ± 25,35 | 0,50 ± 1,00 |
| | 20-40 | 2,00 ± 2,31 | 1,50 ± 3,00 | 19,00 ± 20,82 | 1,00 ± 2,00 |
| | Media | 9,50 ± 19,24 | 4,00 ± 3,70 | 30,50 ± 24,74 | 0,75 ± 1,49 |
| | | b | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,002 | 0,216 | 0,463 | 0,928 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

Con respecto a *M. incognita* aparecieron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m² con respecto a los demás tratamientos, después de los cultivos de pepino y tomate. Aunque no aparezcan diferencias significativas entre los demás tratamientos, se puede observar que **las vinazas de remolacha a la dosis de 0,6 l/m² y la solarización presentan menos individuos en suelo que el testigo**. Para las demás poblaciones de nematodos del suelo estudiadas sólo aparecieron diferencias estadísticas entre los tratamientos para el grupo de los doriláimidos, en función de la profundidad en todos los tratamientos. Estos resultados nos confirman que las poblaciones de nematodos doriláimidos se recuperan a los largo del año, disminuyendo sólo durante el periodo de biodesinfección. Lo mismo ocurre para el grupo de los enquitreidos (Tabla 4.16).

A la vez se realizó un análisis de las raíces de los tomates y de los pepinos después de dar por finalizado su cultivo, para ver la influencia de los tratamientos sobre el índice de nodulación de las plantas. Esta campaña, no se pudo cuantificar la producción. Los resultados se recogen en la Tabla 4.17.

Tabla 4.17. Índices medios de nodulación en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) en el 2º cultivo de tomate y pepino.^(*)

| Tratamiento | Tomates | Pepinos |
|--|----------------------|---------|
| Testigo | 3,7 a ^(*) | 5,3 a |
| Solarización | 3,7 a | 5,6 a |
| Vinazas de remolacha 0,6 l/m ² + solarización | 4,1 a | 4,7 a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² + solarización | 3,4 a | 1,8 a |

^(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha= 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Cuando se analizan los síntomas producidos por *M. incognita* en las raíces de tomates y pepinos, se observó con claridad que los mejores resultados se obtuvieron en los tratamientos con vinazas (Tabla 4.17), aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. **En este ensayo, además, se observó que en todos los tratamientos en los que se aplican vinazas de remolacha, la disminución de la flora arvensis es mayor que en el suelo solarizado** y que en el testigo, donde el número de plantas arvenses que emergen es mayor.

B. Campaña 2006/2007. Como se ha comentado en el Apartado 3.7.1 del capítulo de Material y Métodos, durante este período debido a la realización de unas obras en la carretera próxima al túnel, se redujo parte de su superficie y hubo que diseñar de nuevo el ensayo cambiando los tratamientos y también la ubicación de algunas parcelas. Estos cambios no afectaron al tratamiento con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m² combinado con

solarización, que fue el que mejores resultados obtuvo la campaña anterior (2005/2006) y sobre el cual se reiterarán la biodesinfección de suelos con vinazas de remolacha, para intentar ver cual es el efecto de su aplicación continuada. Debido a estos cambios, se realizó de nuevo un análisis estadístico para conocer las condiciones de partida de la nueva situación de estudio. En la Tabla 4.18 se recogen los resultados de los análisis de nematodos y enquitreidos obtenidos después de cambiar de ubicación alguna de las parcelas. Aparecen diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización y el resto. Los resultados son similares a los obtenidos al finalizar el cultivo de tomates y pepinos. Aún así se puede observar que a ambas profundidades las parcelas testigo tienen poblaciones mayores que las del tratamiento con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m² sin cubrir con plástico.

Tabla 4.18. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) antes de comenzar el periodo de biodesinfección (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos ^(**) | Enquitreidos |
|---|------------------|---------------------------------------|--------------|----------------------------|--------------|
| Testigo | 0-20 | 240,50 ± 80,11 | 16,0 ± 13,37 | 50,50 ± 25,48 | 3,0 ± 4,76 |
| | 20-40 | 122,0 ± 93,91 | 12,50 ± 6,81 | 70,0 ± 101,52 | 2,0 ± 2,31 |
| | Media | 181,25 ± 102,67 | 14,25 ± 10,0 | 60,25 ± 69,31 | 2,50 ± 3,51 |
| | | a | a | a | a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² | 0-20 | 168,0 ± 74,53 | 7,0 ± 6,22 | 87,0 ± 59,81 | 1,0 ± 2,0 |
| | 20-40 | 43,0 ± 40,97 | 3,50 ± 4,12 | 31,50 ± 21,69 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 105,50 ± 86,97 | 5,25 ± 5,23 | 59,25 ± 51,14 | 0,50 ± 1,41 |
| | | a | a | a | a |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² + solarización | 0-20 | 17,0 ± 26,61 | 6,50 ± 2,52 | 42,0 ± 25,35 | 0,50 ± 1,0 |
| | 20-40 | 2,0 ± 2,31 | 1,50 ± 3,0 | 19,0 ± 20,82 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 9,50 ± 19,24 | 4,0 ± 3,70 | 30,50 ± 24,74 | 0,25 ± 0,71 |
| | | b | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,001 | 0,032 | 0,331 | 0,120 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

Posteriormente se realizaron los distintos tratamientos (8-9-06), que son un testigo y dos tratamientos con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m² uno combinado con solarización y otro sin cubrir con plástico. El 11-10-06 se da por finalizado el periodo de biodesinfección y se produce al estudio de las poblaciones de nematodos y oligoquetos del suelo (Tabla 4.19).

Tabla 4.19. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después de realizar los tratamientos de la campaña 06/07, segundo año de experimentación (Individuos/ 100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos | Enquitreidos |
|--|------------------|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Testigo | 0-20 | 74,50 ± 79,37 | 5,0 ± 2,0 | 15,0 ± 5,29 | 2,50 ± 3,0 |
| | 20-40 | 234,0 ± 218,71 | 10,50 ± 5,75 | 13,50 ± 7,0 | 0,50 ± 1,0 |
| | Media | 154,25 ± 174,55 | 7,75 ± 4,95 | 14,25 ± 5,80 | 1,50 ± 2,33 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 2,50 ± 3,79 | 0,50 ± 1,16 | 4,0 ± 3,56 | 1,0 ± 1,16 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,50 ± 1,0 | 4,0 ± 3,27 | 2,0 ± 1,63 |
| | Media | 1,25 ± 2,82 | 0,50 ± 0,93 | 4,0 ± 3,21 | 1,50 ± 1,41 |
| | | b | b | b | a |
| Vinazas de remolacha (5%) 1,5 l/m ² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 1,0 ± 2,0 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 4,0 ± 4,89 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 2,0 ± 3,85 | 0,0 ± 0,0 | 0,50 ± 1,41 | 0,0 ± 0,0 |
| | | b | b | c | a |
| Significación asintótica | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,050 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Los resultados obtenidos después de la aplicación de las vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m² se recogen en la Tabla 4.19. Se puede observar, con respecto a *M. incognita*, que en las parcelas donde se aplicaron vinazas de remolacha, **no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, pero si con el testigo, en el que las poblaciones fueron mayores, apareciendo individuos en todas las parcelas.** En el testigo se observó con respecto al muestreo anterior, que también se redujeron las poblaciones. **La detección de *M. incognita* fue prácticamente nula en las parcelas que llevaban el tratamiento con vinazas de remolacha,** observándose que a la profundidad entre 0-20 cm sólo fue posible detectarlos en las parcelas 3 y 10 con dos y ocho individuos/100 cm³ de suelo. Ambas parcelas corresponden al tratamiento que no está cubierto con plástico. Por el contrario, a la profundidad 20-40 cm los individuos vivos aparecieron en las parcelas 6 y 12 que corresponden con los tratamientos con vinazas de remolacha combinados con solarización, apareciendo 10 y 6 individuos/100 cm³ respectivamente. Para el resto de grupos de nematodos del suelo se observó el mismo fenómeno que el año anterior después de que concluyese el periodo de biodesinfección, apareciendo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en el grupo de los doriláimidos y en el de los rabdítidos, donde las poblaciones fueron menores en ambos tratamientos con vinazas de remolacha. Para el grupo de los doriláimidos no se detectaron individuos en el tratamiento combinado con solarización entre 0-20 cm y en el tratamiento sin plástico entre 20-40 cm. Con respecto a los rabdítidos, se observó que aparecieron diferencias significativas entre todos los tratamientos,

siendo las poblaciones mayores en el testigo, seguido por tratamiento con vinazas de remolacha sin cubrir con plástico y por último en el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización. Lo mismo ocurrió para el grupo de los enquitreidos, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Una vez que concluyó el periodo de biodesinfección se procedió a transplantar las acelgas cv “Amarillo de Lyon”. Cuando las acelgas completaron su ciclo vegetativo, se procedió a su recolección y al estudio de distintos parámetros relacionados con el efecto de los tratamientos (Tablas 4.20-22).

En la Tabla 4.20 se pueden observar los resultados de los análisis de nematodos y oligoquetos (enquitreidos) obtenidos después del cultivo de acelgas. Se debe tener en cuenta que el cultivo de la acelga se realiza durante la estación invernal, que no es la más adecuada para el desarrollo del nematodo formador de nódulos *M. incognita* que es el que está presente en el túnel.

Tabla 4.20. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de acelgas de la Campaña 2006/2007 (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabditidos ^(**) | Enquitreidos ^(**) |
|--|------------------|---------------------------------------|--------------|----------------------------|------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 206,0 ± 224,86 | 6,50 ± 4,12 | 72,0 ± 25,82 | 11,50 ± 5,75 |
| | 20-40 | 75,0 ± 112,91 | 4,0 ± 5,66 | 22,50 ± 17,0 | 4,0 ± 4,90 |
| | Media | 140,50 ± 178,99 | 5,25 ± 4,77 | 47,25 ± 33,31 | 7,75 ± 6,36 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 9,50 ± 19,0 | 2,50 ± 1,92 | 108,50 ± 59,94 | 23,0 ± 21,94 |
| | 20-40 | 18,0 ± 20,79 | 0,0 ± 0,0 | 15,0 ± 18,66 | 2,50 ± 5,0 |
| | Media | 13,75 ± 18,99 | 1,25 ± 1,83 | 61,75 ± 64,71 | 12,75 ± 18,36 |
| | | ab | a | a | a |
| Vinazas de remolacha (5%) 1,5 l/m ² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 1,0 ± 1,16 | 91,0 ± 35,53 | 16,50 ± 18,43 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 1,0 ± 1,16 | 4,0 ± 3,65 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 1,0 ± 1,07 | 47,50 ± 52,05 | 8,25 ± 14,95 |
| | | b | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,001 | 0,080 | 0,883 | 0,619 |

^(*) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad. ^(**) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En la Tabla 4.20, se recogen los resultados obtenidos de los análisis de nematodos y enquitreidos después del cultivo de acelgas. Para las poblaciones de J₂ de *M. incognita* se observó la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización, donde no se detectó ningún individuo y el

testigo, que presentó las poblaciones más elevadas, encontrándose el tratamiento con vinazas de remolacha que no está cubierto con plástico en una situación intermedia. Para el resto de nematodos y enquitreidos estudiados, al igual que el año anterior (Tabla 4.14), no se observaron diferencias estadísticamente significativas, lo que nos confirmó que éstos se recuperan con el tiempo. Las poblaciones de rhabditidos y enquitreidos que después de concluir el periodo de biodesinfección fueron muy bajas en ambos tratamientos con vinazas de remolacha (Tabla 4.19), aumentaron con respecto al testigo. Las poblaciones de doriláimidos también se recuperaron, aunque más lentamente debido a que su ciclo biológico es más largo.

Además del estudio de las poblaciones de nematodos y de enquitreidos, también se estudió el efecto de los tratamientos en el cultivo de la acelga sobre el índice de nodulación medio, el porcentaje de plantas infectadas por *Meloidogyne* y los niveles de producción alcanzados en cada uno de los tratamientos (Tabla 4.21).

Tabla 4.21. Variables estudiadas en campo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) tras el primer cultivo de acelgas de la Campaña 2006/2007. (*)

| Tratamiento | Índice de nodulación medio | % Plantas infectadas | Producción kg/m ² |
|---|----------------------------|----------------------|------------------------------|
| Testigo | 3,10 ± 2,79 a | 68,56 ± 34,03 a | 8,22 ± 2,40 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 1,56 ± 1,17 a | 54,08 ± 32,73 a | 9,04 ± 1,27 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0,53 ± 0,51 a | 22,70 ± 18,78 a | 9,70 ± 0,75 a |
| Significación asintótica* | 0,334 | 0,112 | 0,472 |

(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En la Tabla 4.21 se recogen los resultados de los parámetros estudiados una vez concluido el cultivo de acelgas. Se pudo observar que el tratamiento con vinazas de remolacha combinadas con solarización presentó los mejores resultados para los parámetros estudiados, aunque no existiesen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados, puesto que tuvo las producciones más altas, mientras que los índices medios de nodulación y porcentajes de infección fueron menores. Estos resultados estuvieron en consonancia con los obtenidos del análisis de J₂ de *M. incognita* de suelo (Tabla 4.20). Sin embargo se observó al analizar las raíces de las acelgas que las hembras estaban todas en el estadio J₃, no detectándose la formación de masas de huevos en ningún caso. Debemos destacar, que al no completar *M. incognita* su ciclo, las acelgas deberían haber actuado como planta trampa, al no observarse la formación de masas de huevos en las raíces de acelga. Al analizar las parcelas en función de su orientación y no del tratamiento, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las orientadas al norte y al sur, mediante la prueba de Kruskal-Wallis con

una significación asintótica del 0,025. El índice medio de nodulación y el porcentaje de plantas infectadas en las acelgas son mayores en las parcelas orientadas al sur, con respecto a las orientadas al norte. En las primeras el suelo recibe mayor radiación solar aumentando su temperatura. Este factor es determinante para el movimiento, penetración (infección) y desarrollo de los nematodos en las raíces de las plantas (Tabla 4.22).

Tabla 4.22. Comparación de los valores medios estudiados en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) en relación con la orientación de la parcela (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Índice de nodulación medio | | % Plantas infectadas | | Producción kg/m ² | |
|--|----------------------------|---------------|----------------------|---------------|------------------------------|-------------|
| | Norte | Sur | Norte | Sur | Norte | Sur |
| Testigo | 0,33 ± 0,21 a | 0,74 ± 0,51 b | 15,84 ± 9,17 | 29,59 ± 18,72 | 9,87 ± 0,15 | 9,53 ± 0,87 |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² | 0,62 ± 0,51 a | 2,59 ± 1,15 b | 30,51 ± 21,62 | 77,64 ± 5,34 | 9,76 ± 0,61 | 7,26 ± 2,58 |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² + solarización | 0,77 ± 0,33 a | 5,44 ± 0,80 b | 41,65 ± 16,65 | 95,46 ± 3,46 | 8,32 ± 1,0 | 9,18 ± 0,42 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Posteriormente y siguiendo la rotación de cultivos establecida se procedió a plantar el segundo cultivo del año, que esta campaña fue de tomate cv “Daniela”, susceptible a *M. incognita*. Al final del cultivo, se realizó una toma de datos de los principales parámetros que se estudian (Tabla 4.23).

Tabla 4.23. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de tomate de la Campaña 2006/2007 y antes de comenzar el periodo de biodesinfección de la Campaña 2007/2008 (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos ^(**) | Enquitreidos ^(**) |
|---|------------------|---------------------------------------|--------------|----------------------------|------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 280,0 ± 118,90 | 7,50 ± 1,92 | 63,0 ± 19,15 | 5,0 ± 4,76 |
| | 20-40 | 229,0 ± 94,10 | 3,0 ± 4,76 | 22,50 ± 12,69 | 2,0 ± 2,31 |
| | Media | 254,50 ± 102,94 | 5,25 ± 4,13 | 42,75 ± 26,36 | 3,50 ± 3,82 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 69,50 ± 40,71 | 6,50 ± 3,0 | 60,0 ± 31,37 | 14,0 ± 9,52 |
| | 20-40 | 108,0 ± 129,34 | 2,0 ± 4,0 | 13,50 ± 3,79 | 3,0 ± 1,16 |
| | Media | 88,75 ± 91,12 | 4,25 ± 4,06 | 36,75 ± 32,34 | 8,50 ± 8,60 |
| | | ab | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 29,50 ± 37,78 | 1,0 ± 2,0 | 163,0 ± 50,66 | 14,50 ± 4,44 |
| | 20-40 | 63,0 ± 111,48 | 0,50 ± 1,0 | 18,50 ± 7,72 | 4,0 ± 4,62 |
| | Media | 46,25 ± 79,11 | 0,75 ± 1,49 | 90,75 ± 84,21 | 9,25 ± 7,01 |
| | | b | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,002 | 0,054 | 0,433 | 0,175 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**)Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

En primer lugar se analizarán las poblaciones de nematodos y oligoquetos presentes en el suelo después del cultivo de tomates (Tabla 4.23). Al analizar las poblaciones del patógeno *M. incognita* se observó que existían diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento que combina vinazas de remolacha con solarización que es el que menos abundancia de individuos posee y el testigo, quedando el tratamiento con vinazas de remolacha que no se combina con solarización en una situación intermedia. Sin embargo para el resto de grupos de individuos edáficos estudiados no existen diferencias estadísticamente significativas, confirmándose los resultados obtenidos en análisis anteriores (Tablas 4.18 y 20), donde se observó que las poblaciones de doriláimidos, rabdítidos y enquitreidos se recuperaban, e incluso su abundancia se incrementaba con respecto al testigo. A pesar de todo, las poblaciones de doriláimidos fueron menores, confirmándose de nuevo que la recuperación fue más lenta. A la vez que se estudian los datos obtenidos de nematodos de suelo, estos se comparan con los obtenidos del estudio de la interacción entre *M. incognita* y la planta (Tabla 4.24).

Tabla 4.24. Variables estudiadas en campo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) tras el segundo cultivo de tomate de la Campaña 2006/2007. (*)

| Tratamiento | Índice de nodulación medio | | % Plantas infectadas | |
|---|----------------------------|---|----------------------|---|
| Testigo | 5,10 ± 1,61 | b | 87,48 ± 11,20 | b |
| Vinazas de remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 2,70 ± 1,27 | a | 66,15 ± 25,92 | b |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 1,29 ± 0,70 | a | 35,50 ± 14,92 | a |
| F | 9,692 | | 8,033 | |
| P value | 0,006 | | 0,010 | |

(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Una situación similar a la que se da en las poblaciones de *M. incognita* en suelo se presentó para los efectos que causa sobre las plantas. El **índice medio de nodulación fue menor en los tratamientos con vinazas de remolacha, combinados o no con solarización, presentando diferencias estadísticamente significativas con el testigo, que fue el que tuvo los valores más elevados. Al estudiar el porcentaje de plantas infectadas, se confirmó que el tratamiento con vinazas de remolacha fue el más eficaz, puesto que fue el que más redujo los focos de *M. incognita* en suelo ya que el porcentaje de plantas infectadas fue menor.** Aun así, en el tratamiento con vinazas de remolacha que no se combina con solarización también se produjo una disminución importante. Los resultados presentaron la misma tendencia que las poblaciones de *M. incognita* (Tabla 4.23).

Como puede observarse, el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización es el que mejores resultados presentó para el manejo de *M. incognita*, que es el propósito de la investigación, disminuyendo los daños causados en planta y el inóculo

de la enfermedad con respecto a los otros tratamientos. Además no se observó ningún impacto sobre la biología del suelo. Pero para confirmar que esta alternativa de trabajo fue la más eficaz, se estudió la producción obtenida. Esta campaña, se realizó un seguimiento de la producción, para poder así comparar y completar los estudios y para poder afirmar que el empleo de vinazas de remolacha es una buena alternativa al empleo de agroquímicos para el manejo de nematodos formadores de nódulos como *M. incognita* (Tabla 4.25).

Tabla 4.25. Producción de tomates por categorías (kg/m²) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante el segundo cultivo de tomate de la campaña 2006/2007. (*)

| Tratamiento | Comercial | Destrío | Total |
|---|-------------|-------------|-------------|
| Testigo | 5,65±1,38 a | 1,62±1,09 a | 7,26±1,75 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 7,08±1,09 a | 2,05±0,74 a | 9,12±1,51 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 6,86±1,45 a | 2,26±0,13 a | 9,12±1,36 a |
| Significación asintótica | 0,491 | 0,491 | 0,219 |

(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Los principales parámetros de producción se recogen en la Tabla 4.25. Se observó que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en la producción, ya fuera la comercial o el destrío. Sin embargo si que se observaron tendencias, puesto que **la mayor producción comercial se obtuvo en el tratamiento con vinazas de remolacha que no se combina con solarización** y que el destrío fue mayor en el tratamiento con vinazas de remolacha cubiertas con plástico (Fig. 4.5), puesto que la producción total en este año ha sido similar para los dos tratamientos con vinazas de remolacha. Como fue de esperar tanto la producción comercial, como la total fueron más bajas en las parcelas testigo. Estos resultados se deberán de confirmar con los resultados que se obtengan en la siguiente campaña (2007/2008).

Tabla 4.26. Número de frutos de tomate recolectados en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante la Campaña 2006/2007. (*)

| Tratamiento | Comercial | Destrío | Total |
|---|---------------------|--------------------|---------------------|
| Testigo | 63,58 \pm 11,02 a | 13,72 \pm 7,09 a | 77,29 \pm 11,30 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 81,15 \pm 7,88 a | 18,47 \pm 7,08 a | 99,62 \pm 13,42 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 77,12 \pm 11,65 a | 19,03 \pm 1,52 a | 96,15 \pm 11,47 a |
| Significación asintótica | 0,138 | 0,397 | 0,123 |

(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.26 se observó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos en relación al número de frutos recolectados, y al igual que ocurría con la producción (kg/m²) (Tabla 4.25), **el tratamiento que mayor cantidad de frutos comerciales produjo fue el de vinazas de remolacha que no estaba combinada con**

solarización y el que tiene mayor cantidad de frutos de destrío es del tratamiento con vinazas de remolacha combinada con solarización. **El tratamiento testigo al ser el que tuvo la menor producción**, fue el que menor número de frutos produjo en todos los factores analizados. Sin embargo se observó que cuando se comparaba la producción comercial con el número de fruto obtenidos en conjunto, el tratamiento de vinazas de remolacha sin cubrir con plástico fue el que tuvo menor peso por fruto, a pesar de que no se observaron casi diferencias.

Un parámetro de importancia a estudiar es la producción en el tiempo de los distintos tratamientos, en función del objetivo que busquemos, que puede ser obtener frutos de primor o prolongar la producción en el tiempo (Fig.4.5).

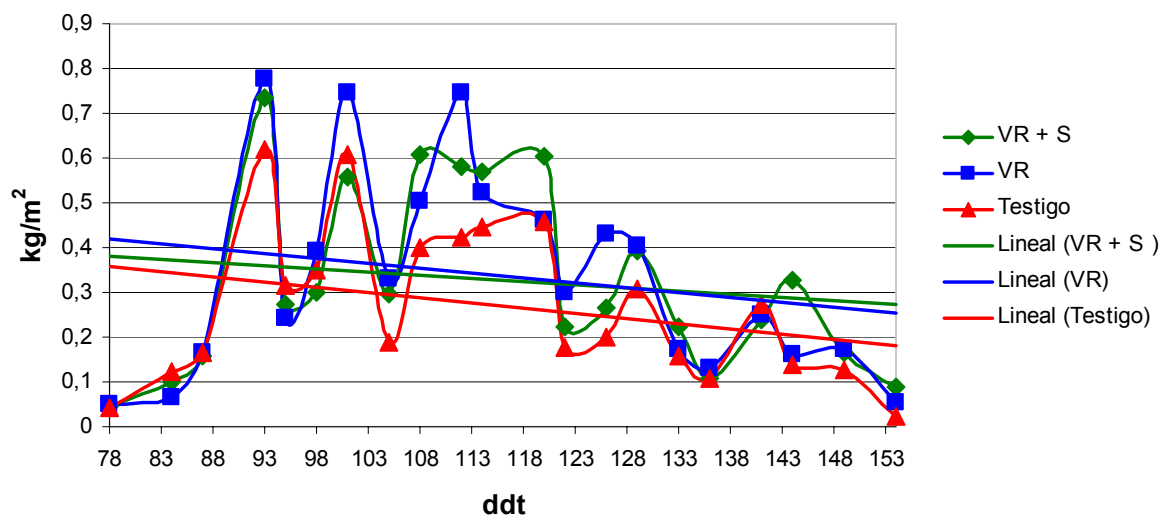


Figura 4.5. Recolección de tomate (kg/m^2) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) a lo largo del tiempo durante la Campaña 2006/2007 (ddt días después del transplante, VR + S vinazas de remolacha $1,5 \text{ kg/m}^2$ + solarización, VR vinazas de remolacha $1,5 \text{ kg/m}^2$).

En la Fig. 4.5 se recoge la distribución de la recolección a lo largo del tiempo, observándose que **el tratamiento con vinazas de remolacha no combinada con solarización fue el que presenta la mayor producción**, salvo en la recta final del cultivo, donde parece que el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización fue el tratamiento que si continuara tendría las mayores producciones, debido en parte a que fue en el que se desarrolló menos la enfermedad y en el resto de tratamientos los nematodos empezaron a reducir la producción, por lo que si se prolongara el cultivo con mayor duración, quizás el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización fuese el que mayor rendimiento obtendría.

Este efecto se puso de manifiesto cuando analizamos la producción acumulada, observándose que es en todo momento mayor en el tratamiento con vinazas de remolacha sin cubrir con plástico, pero se observó que al final del cultivo la producción del tratamiento con vinazas de remolacha cubiertas con plástico se acercaba al otro tratamiento con vinazas (Fig. 4.6).

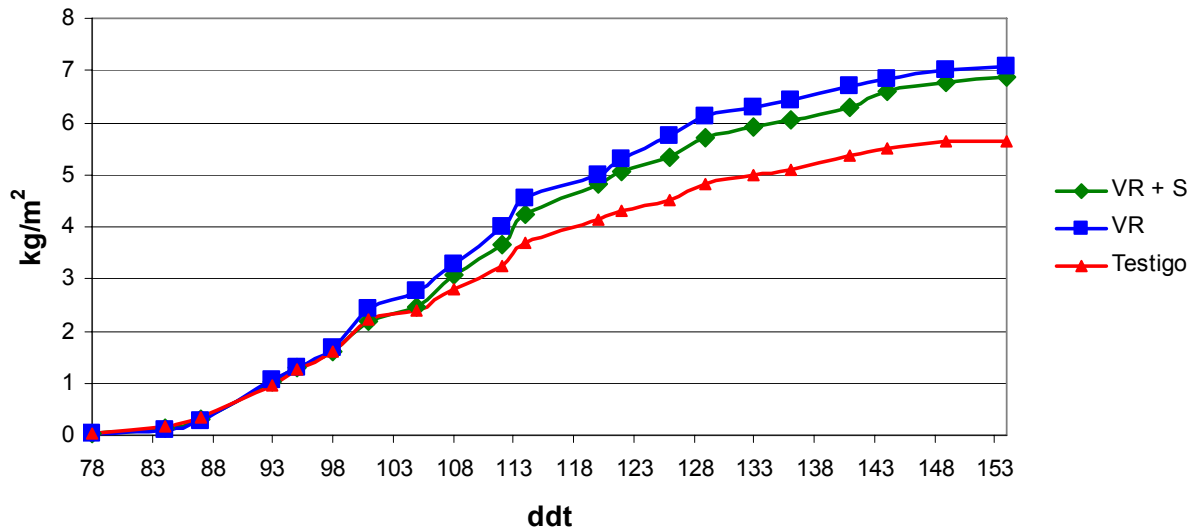


Figura 4.6. Producción acumulada de tomate en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) en la Campaña 2006/2007 (ddt: días después del transplante, VR + S vinazas de remolacha 1,5 kg/m² + solarización, VR vinazas de remolacha 1,5 kg/m²).

C. Campaña 2007/2008. Durante esta campaña se continuó con un año más de experimentación, para confirmar los resultados obtenidos durante la Campaña 2006/2007, y observar qué es lo que ocurre con la reiteración del uso de las vinazas de remolacha sobre las poblaciones de nematodos estudiados y sobre las plantas. Cabe destacar que debido a que el experimento es una continuación de los años anteriores, se partió de poblaciones del patógeno *M. incognita* que no fueron estadísticamente semejantes (Tabla 4.23 y 24). Como se observó durante el cultivo de acelgas de la campaña anterior, las poblaciones de nematodos son mayores en las parcelas orientadas al sur con respecto a las orientadas al norte, aunque en este caso no se produjeran diferencias estadísticamente significativas en función de la orientación. Durante esta campaña 2007/2008 los bloques experimentales y los tratamientos fueron los mismos que durante la campaña anterior, por lo que se procedió a la realización del ensayo siguiendo la misma metodología de trabajo que en años anteriores. Primero se realizó una labor en el suelo con una fresadora para posteriormente incorporar las vinazas de remolacha mediante riego. La biodesinfección de esta campaña se realizó más tarde en el tiempo, debido a que el cultivo todavía tenía una producción suficiente, comenzando el 24-9-07 y se dio por

concluida un mes después el 24-10-07. Al retrasar la biodesinfección lo que ocurrió fue que existiese menos influencia de la temperatura y de la radiación solar debido principalmente a que hay menos horas de luz al día. Una vez transcurrido el periodo de biodesinfección se procedió a realizar un muestreo para comprobar que es lo que había ocurrido con los nematodos del suelo (Tabla 4.27). Cada año se realizó más tarde en el tiempo la biodesinfección de suelos, así podremos además observar si la solarización es necesaria cuando utilizamos vinazas de remolacha en el control de *M. incognita*.

Tabla 4.27. Poblaciones de nematodos y enquitreidos del suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del periodo de biodesinfección de la Campaña 2007/2008 (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos ^(**) | Rabdítidos ^(**) | Enquitreidos ^(**) |
|--|------------------|---------------------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 40,0 ± 23,38 | 6,50 ± 3,79 | 17,50 ± 3,42 | 4,0 ± 4,90 |
| | 20-40 | 33,0 ± 21,20 | 1,50 ± 1,92 | 10,0 ± 5,42 | 4,50 ± 3,42 |
| | Media | 36,50 ± 21,0 | 4,0 ± 3,85 | 13,75 ± 5,80 | 4,25 ± 3,92 |
| | | a | a | a | ab |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 2,0 ± 2,83 | 9,0 ± 8,41 | 88,50 ± 27,78 | 9,50 ± 6,61 |
| | 20-40 | 9,0 ± 13,22 | 2,0 ± 4,0 | 18,0 ± 12,33 | 10,0 ± 4,62 |
| | Media | 5,50 ± 9,61 | 5,50 ± 7,15 | 53,25 ± 42,61 | 9,75 ± 5,29 |
| | | b | a | a | b |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,50 ± 1,0 | 45,0 ± 62,19 | 1,0 ± 1,16 |
| | 20-40 | 2,75 ± 3,78 | 0,0 ± 0,0 | 75,0 ± 150,0 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 1,38 ± 2,88 | 0,25 ± 0,71 | 60,0 ± 107,51 | 0,50 ± 0,93 |
| | | b | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,001 | 0,049 | 0,146 | 0,002 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

En la Tabla 4.27 se recogen los resultados obtenidos de los análisis después de realizar el periodo de biodesinfección del suelo. Para las poblaciones de *M. incognita*, **se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos que utilizan vinazas de remolacha con respecto al testigo**. Sin embargo, igual que ocurrió la campaña anterior, después de que concluyera el periodo de biodesinfección, las poblaciones de *M. incognita* en el testigo disminuyeron en relación con los análisis realizados al final del cultivo anterior de tomate (Tabla 4.23), apareciendo en todo el ensayo y profundidades. En las parcelas tratadas con vinaza de remolacha no solarizadas fue donde más individuos se localizaron apareciendo las parcelas 2 y 3 infectadas con 6 y 8 individuos/100 cm³ respectivamente a la profundidad entre 0-20 cm y con 28 y 8 a la profundidad de 20-40 cm, mientras que en las otras dos parcelas la detección de *M. incognita* fue nula. En las parcelas tratadas con vinaza de remolacha y cubiertas con plástico, a la profundidad 0-20 cm no se detectó la presencia de

individuos de *M. incognita*, mientras que a la profundidad entre 20-40 cm, aparecieron individuos en las parcelas 1 y 6 con tres y ocho individuos/100 cm³ respectivamente. **Al igual que ocurrió el año anterior se observó que la eliminación de *M. incognita* no fue total en todas las parcelas, mientras que después de la biodesinfección realizada la primera campaña (2005/2006) no se detectó ningún individuo a la dosis de 1,5 l/m² combinada con la solarización.** Con respecto al resto de grupos de nematodos no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, aunque sí en función de la profundidad donde las poblaciones fueron menores, sin embargo **en el tratamiento combinado con solarización las poblaciones de doriláimidos fueron más bajas, como ocurría en años anteriores** (Tablas 4.11 y 19). Para el grupo de los enquitreidos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización y los otros dos, con poblaciones menores. Por lo tanto se puede concluir tras los tres años de ensayo, que **adelantando el periodo de biodesinfección y combinando esta con la solarización la utilización de vinazas de remolacha presentaba más eficacia en el control de *M. incognita***, disminuyendo el resto de fauna del suelo estudiada.

Una vez que se da por finalizado el periodo de desinfección de los suelos, se realiza la plantación de las acelgas, con cuatro hojas verdaderas el 14-11-2007. El 19-3-2008 se realizó la recolección y toma de datos tanto en suelo como en planta (Tablas 4.28 y 4.29).

Tabla 4.28. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) tras el cultivo de acelga de la campaña 2007/2008 (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos ^(**) | Enquitreidos ^(**) |
|--|------------------|---------------------------------------|--------------|----------------------------|------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 145,50 ± 63,72 | 3,25 ± 1,71 | 238,50 ± 161,46 | 7,0 ± 4,76 |
| | 20-40 | 154,50 ± 74,03 | 3,50 ± 2,38 | 81,50 ± 31,09 | 3,75 ± 1,71 |
| | Media | 150,0 ± 64,13 | 3,38 ± 1,92 | 160,0 ± 136,49 | 5,38 ± 3,74 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 149,50 ± 163,87 | 2,50 ± 3,79 | 210,50 ± 50,13 | 30,75 ± 16,36 |
| | 20-40 | 115,0 ± 20,17 | 1,0 ± 1,16 | 62,0 ± 22,21 | 4,50 ± 2,38 |
| | Media | 132,25 ± 109,65 | 1,75 ± 2,71 | 136,25 ± 87,12 | 17,63 ± 17,72 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 7,50 ± 11,36 | 1,50 ± 1,73 | 375,0 ± 412,86 | 9,50 ± 9,85 |
| | 20-40 | 5,0 ± 3,46 | 0,50 ± 1,0 | 147,50 ± 173,86 | 4,0 ± 4,32 |
| | Media | 6,25 ± 7,89 | 1,0 ± 1,41 | 261,25 ± 317,48 | 6,75 ± 7,63 |
| | | b | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,000 | 0,044 | 0,857 | 0,125 |

^(*) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad. ^(**) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Se observó que **existían diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de las poblaciones de *M. incognita* entre el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización** con respecto al resto de tratamientos. La abundancia de J₂ de *M. incognita* en suelo no se debió a que los nematodos se hayan desarrollado durante el ciclo de cultivo de la acelga, ya que se analizaron raíces infectadas, observándose que las hembras no habían completado su ciclo. Las hembras se encontraban todas en estado J₃ por lo que no habían completado su ciclo y por lo tanto no había comenzado la formación de huevos.

Como en campañas anteriores también se estudiaron algunos parámetros en las plantas (Tabla 4.29).

Tabla 4.29. Parámetros estudiados en campo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) tras el cultivo de acelgas de la Campaña 2007/2008.^(*)

| Tratamiento | Índice de nodulación medio | | % Plantas infectadas | | Producción kg/m ² | |
|---|----------------------------|---|----------------------|---|------------------------------|---|
| Testigo | 2,42 ± 1,88 | a | 67,92 ± 26,85 | a | 7,94 ± 1,07 | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 1,20 ± 1,39 | a | 28,91 ± 41,46 | a | 9,80 ± 1,45 | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0,13 ± 0,25 | a | 4,72 ± 5,96 | a | 9,58 ± 1,42 | a |
| Significación asintótica | 0,037 | | 0,073 | | 0,123 | |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los parámetros estudiados en las plantas de acelga (Tabla 4.29). El índice medio de nodulación de los tratamientos tuvo una significación asintótica que explica diferencias estadísticamente significativas, pero al hacer la corrección de Bonferroni estas diferencias desaparecieron. Entre el testigo y el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización se encontró que la significación está límite. La influencia de los tratamientos sobre el cultivo de acelgas fue similar a la del año anterior (Tabla 4.21). **Las producciones fueron más elevadas en ambos tratamientos con vinazas de remolacha con respecto al testigo**, mientras que en los parámetros relacionados con la infección por *M. incognita*, a pesar de que no existiesen diferencias estadísticamente significativas, se observó que **en el tratamiento combinado con solarización tanto el índice medio de nodulación como el porcentaje de plantas infectados fueron menores con respecto al tratamiento que no está combinado con solarización**.

Por otro lado, se observaron visualmente diferencias entre las distintas parcelas en función de su orientación, por lo que se realiza además un análisis estadístico para ver si esas diferencias existen (Tabla 4.30).

Tabla 4.30. Parámetros estudiados en campo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) en función de la orientación de las parcelas tras el cultivo de acelgas de la Campaña 2007/2008.

| Tratamiento | Índice de nodulación medio | | % Plantas infectadas | | Producción kg/m ² | |
|---|----------------------------|-------------|----------------------|---------------|------------------------------|--------------|
| | Norte | Sur | Norte | Sur | Norte | Sur |
| Testigo | 0,80 ± 0,14 ⁽¹⁾ | 4,05 ± 0,21 | 45,83 ± 3,54 | 90,0 ± 14,14 | 7,14 ± 0,62 | 8,74 ± 0,70 |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0,35 ± 0,50 | 2,05 ± 1,63 | 13,19 ± 18,66 | 44,62 ± 61,82 | 8,68 ± 0,85 | 10,94 ± 0,68 |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0,0 ± 0,0 | 0,25 ± 0,35 | 2,78 ± 1,58 | 6,67 ± 9,43 | 8,54 ± 1,26 | 10,63 ± 0,31 |

⁽¹⁾Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Al igual que el año anterior, al realizar un análisis estadístico en función de la orientación del túnel, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la producción de acelgas entre las parcelas orientadas al sur con las orientadas al norte, debido principalmente a la temperatura (Fig.4.7), con una significación asintótica del 0,025 mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Aunque para el resto de los parámetros estudiados no se encontrasen diferencias estadísticamente significativas, se pudo observar que los valores fueron mayores en la orientación norte que en la sur (Tabla 4.30).

En un principio no se observó la presencia de masas de huevos en las raíces de acelgas infectadas, al realizar un primer examen bajo el microscopio estereoscópico, confirmando las observaciones de la campaña anterior (2006/2007), por lo que se realizó la extracción de nematodos de las raíces del cultivo de acelga, para ello se utilizó el método de COOLEN (1979) combinado con el método NOMBELA & BELLO (1983) usando caolín para eliminar las fibras que surgen de la trituración de las raíces de acelga. Por ello se realizó la extracción de nematodos de las raíces del testigo, que eran las que mayor índice medio de nodulación tenían. Se escogió una raíz de cada parcela de los testigos que tenía el índice de nodulación más alto y se analizaron. Los resultados se recogen en la Tabla 4.31.

Tabla 4.31. Extracción de nematodos procedentes de la raíz de una acelga por parcela del testigo, aquella que presentaba el índice de nodulación más alto (Individuos/10 g de raíz).

| Parcela | Índice de nodulación planta | J ₂ | J ₃ | J ₄ | Huevos |
|-----------|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|--------|
| Parcela 4 | 5 | 0 | 42 | 0 | 0 |
| Parcela 5 | 2 | 0 | 15 | 0 | 0 |
| Parcela 8 | 7 | 0 | 90 | 0 | 0 |
| Parcela 9 | 3 | 0 | 10 | 0 | 0 |

En la Tabla 4.31 se recogen los resultados obtenidos de la extracción de nematodos de las raíces del cultivo de acelgas de la campaña 2007/2008. Sólo aparecieron hembras en estadio J₃, en las que se observó que la región caudal era filiforme, todavía en ningún caso estaban

redondeadas, lo cual correspondería a un estado J_4 . No se observó en ningún caso la presencia de huevos, ni de otro estadio, a pesar de que en la Tabla 4.28 se destacó la presencia de J_2 con unas poblaciones más elevadas que después de realizar los tratamientos. Por lo que **se puede concluir que las acelgas durante este periodo de cultivo, nos pueden servir como planta trampa para la eliminación de formas infectivas del suelo**, aunque no sean la mejor alternativa de control, pues como se puede observar en la Tabla 4.28, las poblaciones de J_2 de *M. incognita*, fueron elevadas. Por otro lado se estudió la temperatura del suelo a la que se desarrolló el cultivo, observando que no fueron las más adecuadas para el movimiento, penetración y desarrollo de los nematodos.

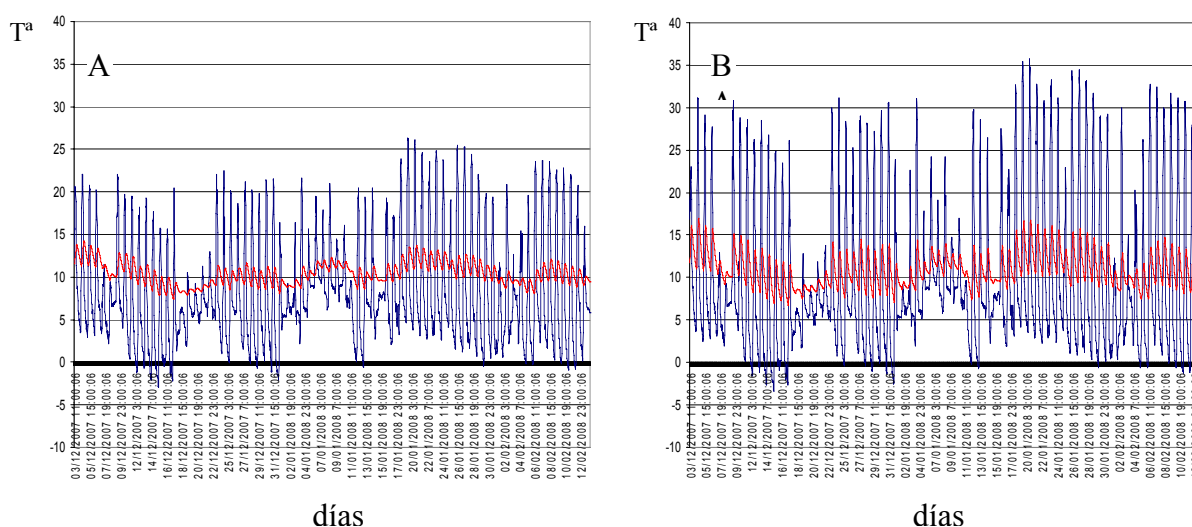


Figura 4.7. Temperatura del suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante el cultivo de acelga en la campaña 2007/2008 A: norte; B: sur.

Como puede observarse en la Fig. 4.7 la temperatura entre las parcelas orientadas al norte fueron inferiores con respecto a las que estaban orientadas en el sur. Este factor influyó tanto en la producción de acelgas como en la infección de los nematodos a la planta. Estos resultados confirman los obtenidos durante la campaña anterior, en los que se observó que tanto la producción como el índice de nodulación medio y el porcentaje de plantas infectadas fueron menores (Tabla 4.22)

Siguiendo con el plan de rotación de cultivos establecido para la zona se realizó posteriormente un cultivo de tomate cv “Daniela”, con una duración de 6 meses (23-4-08/23-9-2008). Una vez que el cultivo dejó de ser productivo se procedió a la toma de datos (Tablas 4.32-35).

Tabla 4.32. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de suelo de los distintos tratamientos en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del periodo de cultivo de tomates de la campaña 2007/2008 (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>M. incognita</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos ^(**) | Enquitreidos ^(**) |
|---|------------------|---------------------------------------|--------------|----------------------------|------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 217,50 ± 55,10 | 5,0 ± 4,16 | 72,50 ± 15,86 | 11,0 ± 3,46 |
| | 20-40 | 265,0 ± 99,24 | 2,0 ± 1,63 | 16,0 ± 11,78 | 9,50 ± 1,0 |
| | Media | 241,25 ± 78,53 | 3,50 ± 3,34 | 44,25 ± 32,85 | 10,25 ± 2,49 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 143,0 ± 37,97 | 4,50 ± 2,52 | 83,50 ± 46,29 | 8,50 ± 1,92 |
| | 20-40 | 194,0 ± 123,70 | 4,0 ± 3,65 | 15,0 ± 49,19 | 15,50 ± 4,44 |
| | Media | 168,50 ± 88,99 | 4,25 ± 2,92 | 49,25 ± 47,74 | 12,0 ± 4,90 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 62,0 ± 39,56 | 3,0 ± 2,0 | 81,0 ± 88,81 | 8,0 ± 2,83 |
| | 20-40 | 203,50 ± 131,52 | 3,0 ± 3,83 | 35,0 ± 38,73 | 12,50 ± 5,75 |
| | Media | 132,75 ± 117,49 | 3,0 ± 2,83 | 58,0 ± 68,03 | 10,25 ± 4,83 |
| | | a | a | a | a |
| Significación Asintótica* | | 0,093 | 0,697 | 0,961 | 0,764 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

En la Tabla 4.32, se recogen los resultados obtenidos tras el análisis de las poblaciones de nematodos y enquitreidos presentes después de dar por concluido el cultivo de tomates. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para ninguno de los parámetros estudiados. **Las poblaciones, al igual que ha ocurrido durante toda la duración del experimento, fueron más bajas en el tratamiento de vinazas de remolacha combinadas con solarización.** Como ocurrió en años anteriores (Tablas 4. 16 y 23), **las poblaciones de rabdítidos, doriláimidos y enquitreidos fueron similares al acabar el cultivo en todos los tratamientos, confirmando que se produce su recuperación a lo largo de la campaña de cultivo, aunque después de realizar el tratamiento disminuyen.**

Tabla 4.33. Parámetros estudiados en planta en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) tras el cultivo de tomate de la campaña 2007/2008.^(*)

| Tratamiento | Índice de nodulación medio | % Plantas infectadas |
|---|----------------------------|----------------------|
| Testigo | 4,92 ± 0,80 b | 92,61 ± 8,67 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 2,58 ± 1,43 a | 68,19 ± 28,43 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 1,63 ± 1,14 a | 56,47 ± 23,03 a |
| F | 8,635 | 2,885 |
| P value | 0,008 | 0,108 |

^(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En la Tabla 4.33 se recogen los resultados obtenidos de la infección de *M. incognita* después del cultivo de tomate. Los resultados obtenidos esta campaña fueron menores que los de la campaña anterior para todos los tratamientos (2006/2007), en los cuales se encontraban diferencias estadísticamente significativas mayores entre los tratamientos. En esta campaña no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos cuando se estudiaron los porcentajes de plantas infectadas. Sin embargo **se observó que los tratamientos con vinaza de remolacha presentaron mejores resultados con respecto al testigo**, a pesar de que fueron más elevados que en la campaña anterior (Tabla 4.25), **sobre todo en el tratamiento con vinaza de remolacha combinado con solarización**. Para el índice medio de nodulación sí se observaron diferencias estadísticamente significativas entre **el tratamiento con vinaza de remolacha combinado con solarización, que presentaba los valores más bajos, con el resto de tratamientos**, aunque se observó que habían aumentado con respecto a la campaña anterior.

Tabla 4.34. Producción de tomates por categorías (kg/m²) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante el segundo cultivo de la campaña 2007/2008.^(*)

| Tratamiento | Comercial | Destrio | Total |
|---|-------------|---------------|-------------|
| Testigo | 3,43±0,19 a | 1,30 ± 0,49 a | 4,73±0,67 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) sin cubrir con plástico | 5,42±1,59 a | 1,48±1,08 a | 6,90±2,52 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 3,34±0,45 a | 1,39±0,60 a | 4,73±1,01 a |
| Significación asintótica | 0,289 | 1,000 | 0,289 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.34 se recogen los resultados de producción obtenidos después del cultivo de tomate. Como puede observarse la producción disminuyó en todos los tratamientos con respecto a la campaña anterior (2006/2007) (Tabla 4.25). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. En esta campaña, al igual que en la anterior el tratamiento con vinazas de remolacha sin combinar con solarización fue en el que obtuvieron los mejores resultados, seguido por el testigo y por último el tratamiento con vinazas de remolacha combinadas con solarización donde la producción fue menor. Además al comparar con el año anterior, se observó que el tratamiento con vinazas de remolacha combinado con solarización obtiene peores resultados en relación a la producción, a pesar de que es el tratamiento que es más eficaz en el manejo de *M. incognita* para las prácticas de manejo propuestas en el trabajo. Por eso debería de estudiarse cuáles son los posibles factores limitantes que hacen que la producción disminuya.

Tabla 4.35. Número de frutos de tomate recolectados en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante la Campaña 2007/2008.^(*)

| Tratamiento | Comercial | Destrío | Total |
|---|---------------|--------------|---------------|
| Testigo | 50,61 ±1,76 a | 11,74±3,12 a | 62,34±3,99 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 75,85±20,74 a | 14,77±9,63 a | 90,62±29,99 a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 60,47±17,79 a | 14,24±5,18 a | 74,71±20,26 a |
| Significación asintótica | 0,212 | 0,724 | 0,289 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Al igual que para la producción no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para el número de frutos recolectados (Tabla 4.35). El tratamiento que mayor producción registraron, es en el que mayor número de frutos se recolectaron, sin embargo el tratamiento con vinazas de remolacha que fue el que menor producción comercial registró, no es el que menos número de frutos obtuvo, por lo que los tomates de este tratamiento en conjunto fueron los que menor tamaño tuvieron. Por lo tanto, habría que estudiar cuáles son los factores que hacen que los tomates alcancen menor tamaño, pese a que fue el tratamiento más eficaz en el manejo de nematodos para el sistema de manejo propuesto en el trabajo.

Además de conocer la producción de frutos, también nos interesa conocer cómo se distribuye la recolección en el tiempo, para estudiar la influencia del tratamiento en la precocidad de la producción (Fig. 4.8).

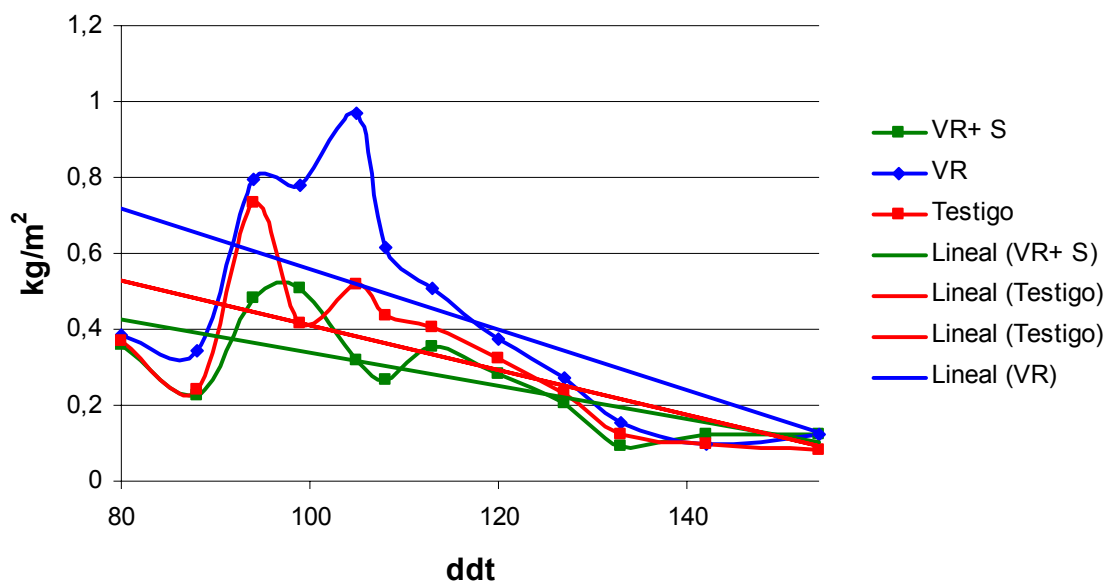


Figura 4.8. Recolección de tomate (kg/m²) a lo largo del tiempo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante la campaña 2007/2008 (ddt días después del transplante, VR + S vinazas de remolacha 1,5 kg/m² + solarización, VR vinazas de remolacha 1,5 kg/m²).

En la Fig. 4.8 se analiza la recolección de tomates durante el periodo de cultivo. Se observó que la mayor parte de la producción se recolectó al principio del cultivo, descendiendo rápidamente según transcurría el tiempo. Las producciones fueron menores si se comparan con la campaña anterior (Fig. 4.5). **El tratamiento que mayor producción total obtuvo durante toda la duración del cultivo fue el de vinazas de remolacha no combinadas con solarización.** Por otro lado el tratamiento con vinaza de remolacha combinado con solarización ha sido el menos productivo durante todo el cultivo, quedando el testigo en una situación intermedia entre ambos.

El la Fig. 4.9 se recoge la producción acumulada, observándose que durante esta campaña, las curvas estaban más separadas que en la anterior (Fig. 4.8). La producción fue mayor en el testigo que en el tratamiento con vinazas de remolacha, pese a que este último tratamiento es el que mejores resultados obtiene relacionados con la infección por *M. incognita*.

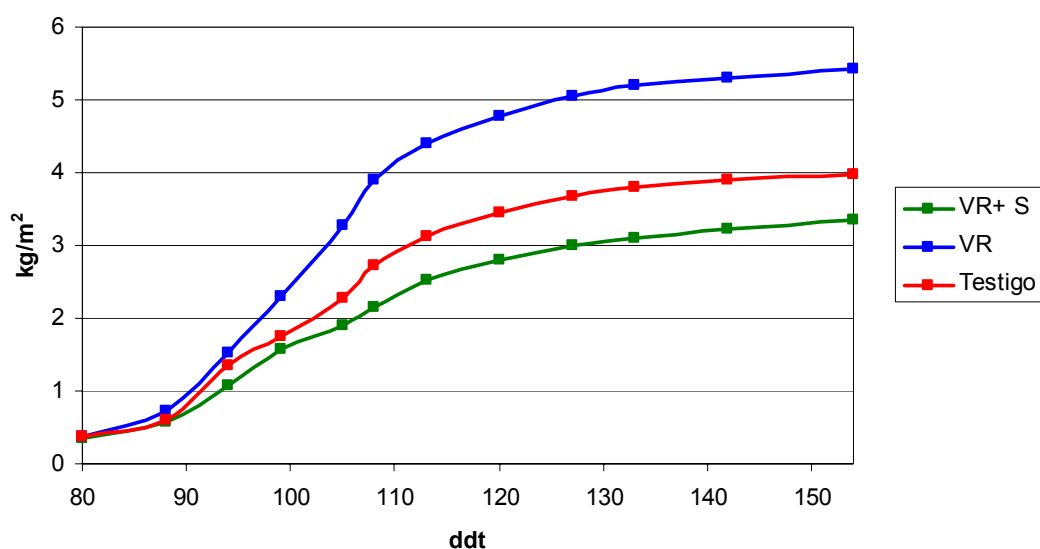


Figura 4.9. Producción acumulada de tomate en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) durante la campaña 2007/2008 (ddt días después del transplante, VR + S vinazas de remolacha 1,5 kg/m² + solarización, VR vinazas de remolacha 1,5 kg/m²).

Conclusiones del ensayo. En relación con el manejo propuesto en el trabajo, los tratamientos con **vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m² son los más eficaces en el control de nematodos**, si bien se observa que **cuanto antes se realice el tratamiento la eficacia es mayor**, pues se ha observado en el trabajo que los mejores resultados se obtuvieron la primera campaña de estudio en la cual se realizó el tratamiento en la primera mitad del mes de agosto, mientras que los peores resultados se obtuvieron la última campaña en la cual se realizó la biodesinfección a finales del mes de septiembre, observando además que la combinación con la solarización hace que los tratamientos sean más eficaces. Sin embargo cuando analizamos

la producción, el tratamiento más eficaz es el de vinaza de remolacha sin solarización. Por eso en un futuro se deberían de estudiar cuáles son los factores que hacen que la solarización sea menos productiva. Se confirma además que para el resto de fauna de suelo estudiada los tratamientos con vinazas de remolacha combinadas con solarización son más perjudiciales, aumentando según aumentan los efectos sinérgicos que aporta la solarización. Si bien se debe destacar que tras el primer cultivo de acelgas cv “Amarillo de Lyon” realizado en el sistema de manejo propuesto en el trabajo se observa que estos se recuperan y en algunos casos aumentan como ocurre con el grupo de los rhabdítidos, nematodos asociados a la descomposición de la materia orgánica. Este fenómeno no es tan patente en el grupo de los doriláimidos, que debido a su biología tardan más en establecerse.

4.2.2. Control de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en el cultivo de pimiento en Torre Pacheco (Murcia)

En un invernadero la Finca Experimental Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) se realizó un ensayo durante la campaña 2007/2008 para evaluar la eficacia en el control de nematodos de las vinazas de remolacha o de vino, así como del estiércol fresco de ovino (EFO) en el cultivo de pimiento. En este ensayo los biodesinfectantes utilizados se compararon con el BM, fumigante del suelo para el cual se están buscando alternativas debido la prohibición de uso. En el invernadero se venían evaluando durante las seis campañas anteriores a la del ensayo alternativas al uso de BM como son la solarización y la biodesinfección de suelos utilizando estiércol fresco de ovino combinado con solarización. El desarrollo del ensayo se realizó de acuerdo al Apartado 3.7.2. del capítulo de Material y Métodos, destacando que todos los tratamientos orgánicos estaban combinados con solarización. En este ensayo los subproductos líquidos se aplicaron mediante el sistema de riego, lo que puede reducir costes de mano de obra a la hora de realizar una biodesinfección de suelos con respecto a una aplicación de estiércol, que primero se debe de repartir homogéneamente por el suelo.

En el ensayo se evaluó la eficacia como biodesinfectante de las vinazas de remolacha y de vino a las dosis de 1,5 y 4 kg/m² respectivamente, del estiércol fresco de ovino (EFO) a razón de 2,5 kg/m², asimismo se evaluó la eficacia de una combinación de vinazas de remolacha y estiércol fresco de ovino a mitad de dosis cada uno, es decir a 0,75 y 1,25 kg/m² respectivamente. Dentro de las enfermedades para las que se usaba el BM en el cultivo de pimiento de la Región de Murcia, en el invernadero de ensayo se conocía la presencia de *M. incognita*, pero no la de *Phytophthora capsici*. Una vez que se detectó la presencia del patógeno *M. incognita*, se realizó un muestreo para conocer los niveles poblacionales de nematodos existentes en la situación de partida (Tablas 4.36).

Tabla 4.36. Poblaciones iniciales de nematodos y enquitreidos antes de los tratamientos en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabditidos | Enquitreidos |
|---|------------------|--------------------------------------|--------------|---------------|--------------|
| Testigo (BM) | 0-20 | 274,67 ± 82,01 | 10,0 ± 2,0 | 23,33 ± 15,01 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 177,33 ± 121,17 | 3,33 ± 3,06 | 17,33 ± 16,17 | 2,0 ± 3,46 |
| | Media | 226,0 ± 106,79 | 6,67 ± 4,32 | 20,33 ± 14,33 | 1,0 ± 2,45 |
| | | b | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 288,0 ± 245,23 | 9,75 ± 7,36 | 13,0 ± 6,85 | 1,0 ± 1,51 |
| | 20-40 | 336,75 ± 268,48 | 14,88 ± 9,88 | 10,0 ± 6,14 | 1,50 ± 2,78 |
| | Media | 312,38 ± 249,68 | 12,31 ± 8,82 | 11,50 ± 6,47 | 1,25 ± 2,18 |
| | | b | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 57,67 ± 28,41 | 8,33 ± 5,13 | 17,0 ± 10,10 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 87,0 ± 112,25 | 8,33 ± 4,80 | 11,33 ± 4,84 | 2,33 ± 2,34 |
| | Media | 72,33 ± 79,55 | 8,33 ± 4,74 | 14,17 ± 8,11 | 1,17 ± 1,99 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,006 | 0,345 | 0,324 | 0,733 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En principio se realizó un análisis estadístico en función de los tratamientos de la campaña de pimientos anterior al ensayo, que fueron de MB 98:2 a 30 g/m² con plástico VIF, solarización y estiércol fresco de ovino a 2,5 kg/m² combinado con solarización (Tabla 4.36). Para las poblaciones de *M. incognita*, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento que utilizaba estiércol fresco de ovino combinado con solarización desde la campaña 2001/2002 con los tratamientos de BM y solarización. **El tratamiento con estiércol fresco de ovino fue el que presentó una eficacia mayor en función de las poblaciones de *M. incognita*, puesto que fueron menores. Estos resultados nos permiten concluir, que después de seis años, la reiteración del uso como biodesinfectante de suelos del estiércol fresco de ovino combinado con solarización reduce las poblaciones de *M. incognita* con respecto a la reiteración de la solarización o de BM.** Se observó en ambas profundidades que partimos de poblaciones distintas significativamente. Destacamos que para comprobar la eficacia de las vinazas de remolacha azucarera y de vino subproductos de la industria agroalimentaria, utilizamos las parcelas en las que en campañas anteriores se realizó solarización, siendo este tratamiento el que registró las poblaciones de *M. incognita* más elevadas, aunque fuesen muy similares a las obtenidas en el tratamiento de BM, que es para el que se buscan alternativas. Con respecto al resto de poblaciones de nematodos y enquitreidos se observó que en las condiciones de partida, no existían diferencias estadísticamente significativas al final del cultivo de pimientos, incluso en las parcelas que fueron tratadas con BM, que como

veremos posteriormente, una vez aplicado elimina las poblaciones de nematodos que se estudiarán en este trabajo (Tabla 4.39). Además de conocer los resultados del experimento de la campaña anterior, también nos interesó conocer cuál es la situación de partida en función del tratamiento que se realizó durante esta campaña (Tabla 4.37).

Tabla 4.37. Poblaciones iniciales de nematodos y enquitreidos en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) antes de realizar los tratamientos (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabditidos | Enquitreidos |
|---|------------------|--------------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| Testigo (BM) | 0-20 | 274,67 ± 82,01 | 23,33 ± 15,01 | 10,0 ± 2,0 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 177,33 ± 121,17 | 17,33 ± 16,17 | 3,33 ± 3,06 | 2,0 ± 3,46 |
| | Media | 226,0 ± 106,79 | 20,33 ± 14,33 | 6,67 ± 4,32 | 1,0 ± 2,45 |
| | | a | a | a | a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 329,50 ± 218,43 | 9,0 ± 5,29 | 9,0 ± 8,87 | 1,0 ± 2,0 |
| | 20-40 | 274,50 ± 213,90 | 11,0 ± 3,83 | 15,50 ± 6,19 | 0,50 ± 1,0 |
| | Media | 302,0 ± 202,29 | 10,0 ± 4,41 | 12,25 ± 7,89 | 0,75 ± 1,49 |
| | | a | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 72,0 ± 29,46 | 16,67 ± 9,45 | 10,67 ± 6,11 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 63,33 ± 41,49 | 12,67 ± 4,16 | 8,0 ± 6,93 | 0,67 ± 1,16 |
| | Media | 67,67 ± 32,53 | 14,67 ± 6,89 | 9,33 ± 6,02 | 0,33 ± 0,82 |
| | | a | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² | 0-20 | 43,33 ± 23,09 | 17,33 ± 12,86 | 6,0 ± 3,46 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 110,67 ± 167,62 | 10,0 ± 6,0 | 8,67 ± 3,06 | 4,0 ± 2,0 |
| | Media | 77,0 ± 113,19 | 13,67 ± 9,83 | 7,33 ± 3,27 | 2,0 ± 2,53 |
| | | a | a | a | a |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 0-20 | 246,50 ± 296,68 | 17,0 ± 6,22 | 10,50 ± 6,81 | 1,0 ± 1,16 |
| | 20-40 | 399,0 ± 334,83 | 9,0 ± 8,41 | 14,20 ± 13,79 | 20,50 ± 39,68 |
| | Media | 322,75 ± 304,0 | 13,0 ± 8,07 | 12,35 ± 10,26 | 10,75 ± 28,0 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,005 | 0,358 | 0,076 | 0,117 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Se observa en la Tabla 4.37, que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, para ninguno de los grupos de fauna del suelo estudiados, entre los bloques de parcelas que se utilizaron para la realización del ensayo. Los resultados obtenidos tras este análisis fueron similares a los obtenidos en la Tabla 4.36, observándose que las poblaciones de *M. incognita* fueron más bajas en las parcelas que posteriormente incorporarán estiércol con respecto al resto de tratamientos. Para el resto de fauna edáfica se obtuvieron resultados semejantes a los de la Tabla 4.36, siendo las poblaciones similares en todos los tratamientos.

Posteriormente el 10-8-07 se realizó los distintos tratamientos de biodesinfección del suelo utilizando distintos subproductos agrarios, como fueron las vinazas de remolacha, de vino y el estiércol fresco de ovino. El 17-10-07, dos meses después, se procedió a la retirada del plástico y se realizó un muestreo para ver la eficacia de los tratamientos realizados (Tabla 4.38).

Tabla 4.38. Poblaciones finales de nematodos y enquitreidos después de los tratamientos con biodesinfectantes y antes de haber aplicado el BM en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos ^(**) | Enquitreidos |
|---|------------------|--------------------------------------|---------------|----------------------------|--------------|
| Testigo (BM) | 0-20 | 246,67 ± 159,32 | 12,67 ± 8,08 | 52,0 ± 41,33 | 0,00 ± 0,00 |
| | 20-40 | 230,0 ± 212,16 | 0,67 ± 1,16 | 2,67 ± 2,31 | 0,00 ± 0,00 |
| | Media | 238,33 ± 168,05 | 6,67 ± 8,36 | 27,33 ± 37,62 | 0,00 ± 0,00 |
| | | b | ab | a | a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,50 ± 1,0 | 53,50 ± 21,75 | 21,0 ± 18,29 |
| | 20-40 | 0,50 ± 1,0 | 4,0 ± 5,42 | 13,0 ± 5,03 | 4,50 ± 9,0 |
| | Media | 0,25 ± 0,71 | 2,25 ± 4,06 | 33,25 ± 26,12 | 12,75 ± 16,0 |
| | | a | ab | a | ab |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 26,0 ± 20,30 | 0,00 ± 0,00 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,67 ± 1,16 | 1,33 ± 2,31 | 4,67 ± 5,03 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 0,33 ± 0,82 | 13,67 ± 18,69 | 2,33 ± 4,08 |
| | | a | a | a | ab |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 34,0 ± 10,58 | 0,00 ± 0,00 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 4,67 ± 5,03 | 1,33 ± 2,31 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 19,33 ± 17,69 | 0,67 ± 1,63 |
| | | a | a | a | ab |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 0-20 | 8,50 ± 12,26 | 23,50 ± 35,0 | 62,0 ± 40,10 | 8,00 ± 5,16 |
| | 20-40 | 9,50 ± 10,50 | 8,00 ± 7,12 | 9,00 ± 8,87 | 3,50 ± 1,00 |
| | Media | 9,0 ± 10,58 | 15,75 ± 24,81 | 35,50 ± 39,06 | 5,75 ± 4,20 |
| | | a | b | a | b |
| Significación asintótica | | 0,000 | 0,001 | 0,466 | 0,006 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

En la Tabla 4.38 se observan los resultados obtenidos después del periodo de biodesinfección del suelo. Con respecto a *M. incognita*, principal objetivo del presente trabajo, se observó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos con respecto al testigo. Las poblaciones fueron casi indetectables en todos los tratamientos, apareciendo individuos principalmente en el tratamiento con vinazas de vino, donde únicamente en la parcela 5 no se detectó su presencia a ninguna de las profundidades estudiadas, mientras que en el resto de parcelas se detectaron individuos a ambas

profundidades. En el tratamiento con vinazas de remolacha también se detectó su presencia en la parcela 2, apareciendo dos individuos en 100 cm³ suelo a la profundidad entre 20-40 cm. **En los tratamientos con estiércol fresco de ovino y en la combinación de estiércol fresco de ovino con vinazas de remolacha a media dosis no fue posible detectar su presencia a ambas profundidades.** Con respecto a las demás poblaciones de nematodos y enquitreidos estudiados, se pudo observar, que cuando se utilizó estiércol fresco de ovino ya sea solo o combinado con vinazas de remolacha las poblaciones de doriláimidos disminuyeron, mientras las vinazas de vino fueron las que menos influencia ejercieron sobre ellas. Todo ello a pesar de que prácticamente no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos. **Para el grupo de los rabdítidos, el tipo de tratamiento no influyó en las poblaciones, y al igual que ocurre con las poblaciones de doriláimidos, parece que en los tratamientos que incorporaron estiércol fresco de ovino se produjo un descenso,** sin embargo cuando se incorporaron vinazas las poblaciones aumentaron, siendo mayor en el tratamiento con vinazas de vino. Además se observó que independientemente del tipo de tratamiento existieron diferencias estadísticamente significativas en profundidad, **debido a que a la profundidad entre 20-40 cm las poblaciones fueron más bajas.** Un comportamiento similar se observó para el grupo de los enquitreidos en el estiércol fresco de ovino donde no se detectaron individuos entre 0-20 cm, sin embargo, **las poblaciones en los tratamientos con vinazas de remolacha y de vino fueron más elevadas. De estos resultados se puede concluir que los tratamientos con estiércol fresco de ovino influyen negativamente en las poblaciones de nematodos y enquitreidos estudiados.**

Posteriormente el 1-12-07 se realizó el tratamiento con BM (98:2) a la dosis de 30 g/m², realizándose un muestreo a los tres días (4-12-08) para estudiar su efecto en el suelo después del tratamiento (Tabla 4.39).

Se observó que tras la aplicación de BM es imposible detectar la presencia de ningún nematodo o enquitreidos en el suelo, lo cual nos indica que el BM produce un vaciado biológico que facilita la recolonización del suelo (Tabla 4.39). Cuando lo comparamos con los resultados del muestreo anterior, antes de que se aplicase el BM (Tabla 4.38), se pudo observar que las poblaciones de *Meloidogyne* en todos los tratamientos eran similares, es decir, que no hubo diferencias estadísticamente significativas, por lo que a partir de ahora podemos considerar a todos los tratamientos semejantes, puesto que ya tenemos condiciones similares para el desarrollo del experimento y cultivo del pimiento. A la vez que se realizó un muestreo del tratamiento con BM también se realizó un muestreo en el tratamiento de vinazas

de vino encontrando resultados similares a los obtenidos en la toma de muestras anteriores (Tabla 4.38).

Tabla 4.39. Poblaciones de nematodos y enquitreidos después de los tratamientos y después de haber aplicado el BM en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabditidos ^(**) | Enquitreidos |
|---|------------------|--------------------------------------|---------------|----------------------------|--------------|
| Bromuro de metilo 98:2 30g/m² + plástico VIF | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 |
| | | a | a | a | a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,50 ± 1,0 | 53,50 ± 21,75 | 21,0 ± 18,29 |
| | 20-40 | 0,5 ± 1,0 | 4,0 ± 5,42 | 13,0 ± 5,03 | 4,50 ± 9,0 |
| | Media | 0,25 ± 0,71 | 2,25 ± 4,06 | 33,25 ± 26,12 | 12,75 ± 16,0 |
| | | a | ab | b | ab |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 26,0 ± 20,30 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,67 ± 1,16 | 1,33 ± 2,31 | 4,67 ± 5,03 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 0,33 ± | 13,67 ± 18,67 | 2,33 ± 4,08 |
| | | a | a | ab | ab |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 34,0 ± 10,58 | 0,0 ± 0,0 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 4,67 ± 5,03 | 1,33 ± 2,31 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 19,33 ± 17,70 | 0,67 ± 1,63 |
| | | a | a | ab | ab |
| Vinaza de vino 4 kg/m² + solarización | 0-20 | 8,50 ± 12,26 | 23,50 ± 35,0 | 62,0 ± 40,10 | 8,0 ± 5,16 |
| | 20-40 | 9,50 ± 10,50 | 8,0 ± 7,12 | 9,0 ± 8,87 | 3,50 ± 1,0 |
| | Media | 9,00 ± 10,58 | 15,75 ± 24,81 | 35,50 ± 39,06 | 5,75 ± 4,20 |
| | | a | b | b | b |
| Significación Asintótica* | | 0,001 | 0,010 | 0,008 | 0,006 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

En el mes de enero (4-1-08) se transplantaron los pimientos en el invernadero. El 15-2-08 se realizó una prospección en la rizosfera de las plantas de pimiento no injertadas en los tratamientos de vinazas de remolacha, vino, estiércol y BM para determinar la eficacia de la biodesinfección en el tiempo y la evolución de la enfermedad producida por *M. incognita* (Tabla 4.40).

Tabla 4.40. Poblaciones de nematodos y enquitreidos durante el cultivo en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) (15-2-08) (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos | Enquitreidos |
|---|--------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Bromuro de metilo 98:2 30g/m ² + plástico VIF | 0,0 ± 0,0 a ^(*) | 8,67 ± 8,08 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0,0 ± 0,0 a | 28,00 ± 13,86 a | 11,33 ± 7,57 a | 12,67 ± 12,06 a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0,0 ± 0,0 a | 24,67 ± 27,30 a | 4,67 ± 2,31 a | 16,67 ± 18,90 a |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 13,33 ± 23,09 a | 26,67 ± 19,01 a | 49,33 ± 18,90 a | 8,0 ± 4,0 a |
| Significación asintótica | 0,392 | 0,520 | 0,016 | 0,156 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.40 se puede observar que sólo se detectó la presencia de *Meloidogyne* en una de las parcelas cuyo tratamiento fue de vinazas de vino (parcela 17). **El que no detectaran individuos en la rizosfera de las plantas de pimiento puede deberse a que los nematodos estuviesen dentro de las raíces de las plantas, pues como veremos al final del cultivo de pimientos (Tabla 4.41) se detectó la presencia de *Meloidogyne* en todos los tratamientos y parcelas. Para el resto de poblaciones de nematodos y enquitreidos del suelo estudiados no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos, observándose, con respecto a análisis anteriores (Tablas 4.38 y 39), la recuperación de las poblaciones de doriláimidos en todos los tratamientos, aún así las poblaciones en el tratamiento con BM fueron de menor tamaño. Con respecto a los rabdítidos, se observó en el tratamiento con BM que todavía no había recolonizado el suelo, siendo nula su detección. Para estas poblaciones, aunque la significación asintótica demostró que existen diferencias estadísticamente significativas, estas desaparecieron al hacer la corrección de Bonferroni. Lo mismo ocurrió para el grupo de los enquitreidos, donde parece que su recuperación fue lenta en los tratamientos con BM.**

El 21-5-08 se realizó una toma de muestras del suelo para hacer un seguimiento de las poblaciones de nematodos de la rizosfera de las plantas de pimiento no injertadas, que no portan genes de resistencia (Tabla 4.41), así como de una estimación de los índices de nodulación (Tabla 4.42). Se realizó un muestreo dirigido tratando de analizar tres plantas de cada parcela que presentaban amarillamientos en la zona apical de la planta, un síntoma característico de la infección por *Meloidogyne* en el cultivo del pimiento. Además se observaron todas las plantas que presentaban amarillamientos en la zona apical para ver si

se puede establecer relación entre esta sintomatología y los índices de nodulación de las plantas, no observándose ninguna correlación.

Tabla 4.41. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) durante el cultivo (21-5-08) (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos | Enquitreidos |
|---|--------------------------------------|-------------------|----------------------|------------------|
| Bromuro de metilo 98:2 30g/m ² + plástico VIF | 15,56 ± 21,40 a | 2,89 ± 3,02 ab | 440,89 ± 259,69 a | 1,67 ± 2,12 a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 16,22 ± 38,81 a | 2,56 ± 2,19 ab | 195,56 ± 92,28 a | 2,78 ± 1,39 a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 12,00 ± 28,64 a | 5,33 ± 3,32 a | 221,78 ± 180,88 a | 4,89 ± 4,34 a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² | 5,78 ± 12,23 a | 1,56 ± 2,01 b | 306,44 ± 190,42 a | 5,11 ± 4,37 a |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 8.536,33 ± 13.087,54 b | 4,89 ± 2,85 ab | 143,11 ± 75,98 a | 3,89 ± 1,62 a |
| Significación Asintótica | 0,000 | 0,036 | 0,073 | 0,122 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.41 se pueden observar los resultados obtenidos del estudio de las poblaciones de nematodos de la rizosfera de las plantas de pimiento en el mes de mayo. Se observó que existían diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones de *M. incognita* existentes en el tratamiento de vinazas de vino con respecto al resto de tratamientos en los que las poblaciones de J₂ fueron similares. **En el tratamiento con vinazas de vino las poblaciones de nematodos fueron al menos 500 veces mayores que en el resto de tratamientos. Con respecto al resto de poblaciones de nematodos y enquitreidos estudiados, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, destacando que las poblaciones de rabdítidos fueron más elevadas en el tratamiento con BM, lo cual nos indicó su recolonización en el suelo.**

Al la vez que se tomaron las muestras para estudiar las poblaciones de nematodos del suelo, se realizó una prospección de las raíces de las plantas de pimiento para tratar de estimar de los índices de medios de nodulación de los distintos tratamientos (Tabla 4.42).

Tabla 4.42. Variables estudiadas en las plantas de pimiento en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) durante su cultivo en el mes de mayo (21-5-08).^(*)

| Tratamiento | Índice de nodulación |
|---|----------------------|
| Bromuro de metilo 98:2 30g/m ² + plástico VIF | 0,33 ± 0,71 a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0,0 ± 0,0 a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0,56 ± 1,33 a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² | 0,0 ± 0,0 a |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 3,56 ± 1,81 b |
| Significación Asintótica | 0,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Se observa en la Tabla 4.42, el mismo comportamiento obtenido al estudiar las poblaciones de J_2 de *M. incognita* (Tabla 4.41). Únicamente existieron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con vinaza de vino con respecto al resto de tratamientos, donde los índices de nodulación fueron muy bajos o inapreciables en campo. Los tratamientos que llevaban vinazas de remolacha, ya sea sola o combinada con estiércol no presentaron hasta la fecha ninguna planta infectada por *M. incognita*.

De los resultados obtenidos hasta el mes de mayo en el invernadero de Torre Blanca, se pudo observar que las poblaciones de nematodos no fueron elevadas con la excepción de las obtenidas en el tratamiento con vinazas de vino. Aún así, debido a que los índices de nodulación no fueron elevados, se **podría concluir que las vinazas de vino pueden ser una alternativa al uso de BM en cultivos con una duración de cinco o seis meses**. Estos resultados se deben de confirmar cuando se estudie la evolución de la producción. Entre febrero y mayo se produjo un aumento significativo de las poblaciones de *M. incognita*.

Al dar por finalizado el cultivo de pimiento a comienzos del mes de agosto de 2008 se procedió a la recolección de los últimos datos para evaluar la eficacia de las alternativas propuestas. Para ello se realizó una toma de muestras del suelo con el fin de estudiar el efecto de los distintos tratamientos en las poblaciones de nematodos y de enquitreidos del suelo (Tablas 4.43 y 44), así como otros parámetros en planta como el índice medio de nodulación, el porcentaje de plantas infectadas y la producción obtenida (Tablas 45 y 46). Después de analizar todos estos resultados obtenidos podremos extraer una serie de conclusiones a las alternativas propuestas en este ensayo.

Tabla 4.43. Poblaciones de *Meloidogyne* en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) al final del cultivo de pimiento (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| <i>Meloidogyne</i> | | | | | |
|--|------------------|-------------|-------------|-----------------|-----------------------------|
| Tratamiento | Profundidad (cm) | Machos | Hembras | Huevos | Juveniles (J ₂) |
| Bromuro de metilo 98:2 30g/m² + plástico VIF | 0-20 | 0,67 ± 1,16 | 0,67 ± 1,16 | 250,00 ± 266,45 | 512,00 ± 377,30 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 22,67 ± 30,75 | 270,0 ± 245,50 |
| | Media | 0,33 ± 0,82 | 0,33 ± 0,82 | 136,33 ± 210,43 | 391,0 ± 314,04 |
| | | a | a | a | a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 39,0 ± 65,02 | 100,50 ± 117,10 |
| | 20-40 | 0,50 ± 1,0 | 0,0 ± 0,0 | 17,50 ± 13,10 | 146,0 ± 165,06 |
| | Media | 0,25 ± 0,71 | 0,0 ± 0,0 | 28,25 ± 44,92 | 123,25 ± 134,70 |
| | | a | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 10,0 ± 10,0 | 102,0 ± 66,81 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 25,33 ± 24,11 | 64,0 ± 56,0 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 17,67 ± 18,52 | 83,0 ± 58,93 |
| | | a | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m² | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 5,33 ± 5,03 | 42,67 ± 40,02 |
| | 20-40 | 0,67 ± 1,16 | 0,0 ± 0,0 | 32,0 ± 55,43 | 101,33 ± 170,35 |
| | Media | 0,33 ± 0,82 | 0,0 ± 0,0 | 18,67 ± 38,11 | 72,0 ± 115,24 |
| | | a | a | a | a |
| Vinaza de vino 4 kg/m² + solarización | 0-20 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 118,75 ± 237,50 | 5368,75 ± 3097,34 |
| | 20-40 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 312,50 ± 315,24 | 1800,0 ± 1333,70 |
| | Media | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 215,63 ± 278,37 | 3584,38 ± 2917,65 |
| | | a | a | a | b |
| Significación Asintótica* | | 0,674 | 0,323 | 0,342 | 0,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.43 se pueden observar los resultados obtenidos al final del cultivo de pimiento en el mes de mayo, con respecto a *M. incognita*. Como puede verse sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en las poblaciones de juveniles (J₂), y al igual que en los análisis de muestreos anteriores **todos los tratamientos presentaron resultados similares excepto el tratamiento de vinazas de vino donde las poblaciones de juveniles de *M. incognita* fueron muy elevadas**. Aunque no se observasen diferencias estadísticamente significativas al analizar en conjunto ambas profundidades, **el tratamiento que combina el estiércol fresco de ovino con vinaza de remolacha fue el más eficaz, seguido del tratamiento de vinazas de remolacha, en tercer lugar el que utilizó estiércol fresco de ovino, y por último el de BM**, que presentó las mayores poblaciones.

Para poder evaluar mejor la eficacia de las alternativas al BM propuestas se estudió la producción de pimiento de cada parcela de las que constaba el tratamiento. **Con respecto a**

los resultados obtenidos de las poblaciones de *M. incognita*, con la excepción del tratamiento con vinazas de vino se puede concluir que, aunque no existiesen diferencias estadísticamente significativas, todos los tratamientos propuestos mejoraron en eficacia al tratamiento con BM que es el fumigante de suelos para el que se buscan alternativas debido a la prohibición de su uso, y para el que en el caso del pimiento no tiene usos críticos.

Tabla 4.44. Poblaciones de nematodos y enquitreidos durante el cultivo de pimiento en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia). Método de extracción: centrifugación en azúcar; Doriláimidos: Flegg modificado (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Doriláimidos | Rabdítidos | Enquitreidos ^(**) |
|--|------------------|----------------|---------------|------------------------------|
| Bromuro de metilo 98:2 30g/m² + plástico VIF | 0-20 | 46,67 ± 8,08 | 4,00 ± 2,00 | 1,33 ± 1,53 |
| | 20-40 | 16,0 ± 5,29 | 10,67 ± 12,22 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 31,33 ± 17,87 | 7,33 ± 8,64 | 0,67 ± 1,21 |
| | | a | a | a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 25,0 ± 10,13 | 6,75 ± 4,50 | 3,75 ± 1,89 |
| | 20-40 | 33,0 ± 6,83 | 10,50 ± 3,70 | 0,25 ± 0,50 |
| | Media | 29,0 ± 9,07 | 8,63 ± 4,31 | 2,0 ± 2,27 |
| | | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 31,33 ± 19,73 | 15,67 ± 9,82 | 1,33 ± 1,53 |
| | 20-40 | 18,67 ± 8,08 | 22,0 ± 13,86 | 0,67 ± 1,16 |
| | Media | 25,0 ± 15,17 | 18,83 ± 11,29 | 1,0 ± 1,27 |
| | | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m² | 0-20 | 29,33 ± 6,43 | 20,33 ± 10,50 | 1,0 ± 1,0 |
| | 20-40 | 5,0 ± 5,57 | 14,67 ± 11,72 | 0,0 ± 0,0 |
| | Media | 17,17 ± 14,37 | 17,50 ± 10,43 | 0,50 ± 0,84 |
| | | a | a | a |
| Vinaza de vino 4 kg/m² + solarización | 0-20 | 150,0 ± 73,60 | 18,0 ± 8,83 | 2,0 ± 1,64 |
| | 20-40 | 131,25 ± 31,46 | 17,50 ± 4,12 | 0,75 ± 0,96 |
| | Media | 140,63 ± 53,35 | 17,75 ± 6,39 | 1,38 ± 1,30 |
| | | b | a | a |
| Significación Asintótica | | 0,001 | 0,016 | 0,462 |

^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**) Existen diferencias estadísticamente significativas en función de la profundidad.

Por otro lado, también se estudiaron el resto de poblaciones de nematodos y enquitreidos (Tabla 4.44), se pudo observar que después de un ciclo de cultivo de pimiento, el tratamiento de vinazas de vino fue el que presentó una eficacia menor, o el que mejores condiciones proporcionó al suelo para el desarrollo de las poblaciones de nematodos del grupo de los doriláimidos. Con respecto al grupo de los rabdítidos se observó que no aparecen diferencias entre los distintos tratamientos, observándose además que las poblaciones disminuyen con

respecto a análisis anteriores (Tabla 4.17). Sin embargo se observó que los niveles de población de este grupo trófico fueron similares a los del comienzo del experimento (Tabla 4.37), lo cual nos permitió concluir que las condiciones que aporta la rizosfera del suelo del cultivo de pimiento al final de su ciclo vegetativo, no fueron las idóneas para su desarrollo.

Una vez que se habían estudiado las poblaciones de nematodos del suelo, se recogieron los parámetros estudiados en planta, como fueron los índices de nodulación, porcentaje de plantas infectadas (Tabla 4.45) y la producción (Tablas 4.46 y 47; Figs 4.10 y 11).

Tabla 4.45. Parámetros estudiados en planta en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) al final del cultivo: índices de nodulación y % de plantas infectadas.^(*)

| Tratamiento | Índice de nodulación | | % plantas infectadas | |
|--|------------------------------|---------------|----------------------|-----------------|
| | Sensible | Resistente | Sensible | Resistente |
| Testigo (BM 98:2 30 g/m ²) | 2,76 ± 3,30 a ^(*) | ---- | 50,00 ± 26,46 a | ---- a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² | 1,20 ± 1,88 a | 0,05 ± 0,32 a | 35,0 ± 47,26 a | 5,0 ± 10,00 a |
| Estiércol EFO 2,5 kg/m ² | 1,67 ± 2,20 a | 0,16 ± 0,80 a | 40,0 ± 20,0 a | 6,67 ± 11,55 a |
| Estiércol 1,25 kg/m ² + Vin. remolacha 0,75 kg/m ² | 0,67 ± 1,84 a | 0,13 ± 0,52 a | 20,0 ± 20,0 a | 6,67 ± 11,55 a |
| Vino 4 kg/m ² | 6,50 ± 2,89 b | 2,17 ± 2,21 b | 90,0 ± 20,0 a | 51,25 ± 44,63 a |
| Significación Asintótica* | 0,000 | 0,000 | 0,084 | 0,129 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Al analizar los índices medios de nodulación (Tabla 4.45), se observó que, en relación con los análisis anteriores (Tablas 4.41-43), que **las diferencias se encontraron con el tratamiento de vinazas de vino, donde los índices de nodulación y los porcentajes de plantas infectadas fueron los más elevados**, tanto en plantas susceptibles como en plantas resistentes. En el resto de tratamientos no se observaron diferencias estadísticamente significativas, pero si se observó que **de todos los tratamientos el BM fue el que presentó en conjunto los índices medios de nodulación y porcentajes de infección en planta más elevados. El tratamiento de estiércol fresco de ovino combinado con vinaza de remolacha fue el que mejores resultados obtuvo** con respecto a los parámetros estudiados en planta, resultados que estaban en relación con los obtenidos en los análisis de *Meloidogyne* (Tabla 4.43), donde las poblaciones de juveniles fueron mayores. Como conclusión, se puede señalar que **el mejor tratamiento para el manejo de *M. incognita* es el que combina el estiércol fresco de ovino con vinazas de remolacha ambas a media dosis**. Ahora debemos de analizar la relación de estos resultados con los obtenidos de producción (Tablas 4.46 y 47; Figs 4.10 y 11).

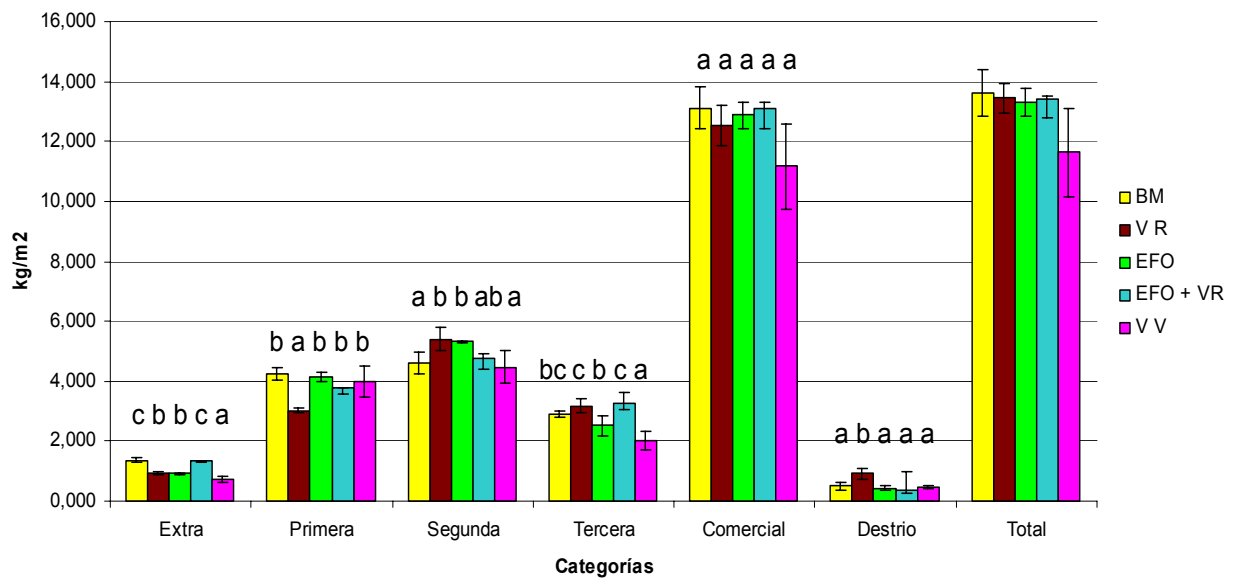


Figura 4.10. Producción (kg/m²) de pimienta en el experimento del invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia).^(*)

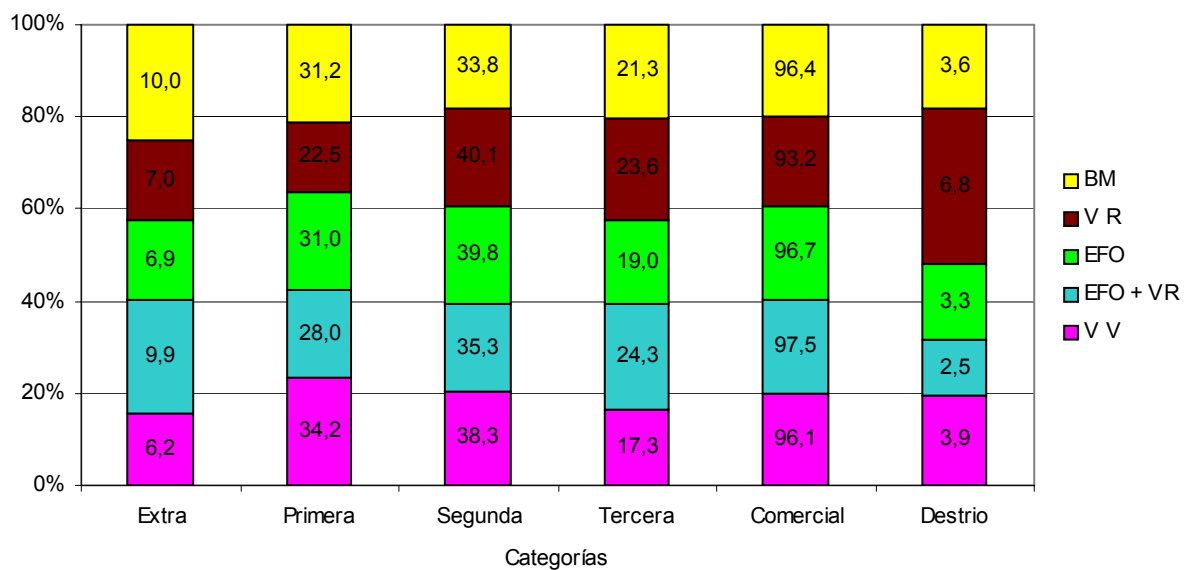


Figura 4.11. Porcentajes de las variables de producción estudiadas en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia).^(*)

^(*)(BM: bromuro de metilo 98:2 30 g/m² + plástico VIF; VR: vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización; EFO: estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización; EFO+VR: estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + vinazas de remolacha 0,75 kg/m² + solarización; VV: vinazas de vino 4 kg/m²+ solarización).

En las Figs 4.10 y 11 se puede observar visualmente los resultados obtenidos de los parámetros de producción estudiados, mientras que en las Tablas 4.46 y 47 se muestra la producción en función de las categorías comerciales de pimienta.

Tabla 4.46. Producción comercial acumulada (kg/m²) y destrío de pimiento en el experimento en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia).^(*)

| Tratamiento | Comercial | Destrío |
|---|----------------|---------------|
| Bromuro de metilo 98:2 30g/m ² + plástico VIF | 13,12 ± 0,70 a | 0,50 ± 0,11 a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 12,53 ± 0,66 a | 0,92 ± 0,17 b |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 12,89 ± 0,44 a | 0,44 ± 0,07 a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² | 13,09 ± 0,64 a | 0,34 ± 0,08 a |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 11,18 ± 1,42 a | 0,45 ± 0,06 a |
| R ² | 0,522 | 0,842 |
| F | 2,733 | 13,372 |
| Significación asintótica | 0,090 | 0,001 |

^(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En las Tablas 4.46-47 y Figs 4.10-11 se pueden observar los resultados obtenidos con respecto a la producción comercial y al destrío. Se observó **no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos realizados** para los datos producción comercial en kg/m². Sin embargo pudo observarse que, al igual que ocurrió con los resultados hematológicos, que **el tratamiento con vinazas de vino fue el que peores resultados obtuvo**. El tratamiento con BM, control con el que comparamos, fue el que mejores resultados obtuvo seguido del tratamiento con estiércol fresco de ovino combinado con vinazas de remolacha a media dosis ambos. En otro grupo se agruparon los tratamientos con estiércol de ovino y de vinaza de remolacha, ambos por separado, que obtuvieron resultados de producción intermedios entre los tratamientos que tuvieron mayor producción como fueron los de BM y la mezcla de estiércol fresco de ovino y vinazas de remolacha a media dosis, y el tratamiento con vinazas de vino fue en el que recogieron las producciones más bajas. En la Tabla 4.46 también puede observarse la cantidad de destrío en kg/m² que tuvieron los distintos tratamientos, siendo el tratamiento de vinaza de remolacha el único que presentaba diferencias estadísticamente significativas con respecto al resto de los demás tratamientos, en los que la cantidad y el porcentaje de destrío fue menor. **Debemos destacar que el tratamiento con estiércol de ovino combinado con vinazas de remolacha además de ser uno de los que mayores producciones registraron, fue el que presentó menor cantidad y porcentaje de destrío**. El resto de tratamientos presentaban cantidades y porcentajes de destrío similares.

Debido a que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos para la producción comercial y para el destrío se analizaron las distintas categorías comerciales (Tabla 4.47).

Tabla 4.47. Producción comercial acumulada (kg/m²) por categorías comerciales de pimiento en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia).^(*)

| Tratamiento | Extra | Primera | Segunda | Tercera |
|--|---------------|---------------|----------------|----------------|
| BM 98:2 30 g/m ² | 1,37 ± 0,08 c | 4,25 ± 0,21 b | 4,60 ± 0,36 a | 2,90 ± 0,12 bc |
| Vin. remolacha 1,5 kg/m ² | 0,94 ± 0,05 b | 3,03 ± 0,09 a | 5,39 ± 0,38 b | 3,17 ± 0,23 c |
| EFO 2,5 kg/m ² | 0,92 ± 0,02 b | 4,13 ± 0,16 b | 5,31 ± 0,05 b | 2,53 ± 0,34 b |
| EFO 1,25 kg/m ² + V. remolacha 0,75 kg/m ² | 1,32 ± 0,03 c | 3,76 ± 0,19 b | 4,74 ± 0,36 ab | 3,27 ± 0,23 c |
| Vin vino 4 kg/m ² | 0,72 ± 0,10 a | 3,98 ± 0,51 b | 4,46 ± 0,54 a | 2,02 ± 0,33 a |
| R ² | 0,959 | 0,792 | 0,608 | 0,821 |
| F | 58,819 | 9,523 | 3,871 | 11,455 |
| Significación | <0,001 | 0,002 | 0,038 | 0,001 |

^(*)Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.47 pueden observarse los resultados obtenidos de producción por categorías comerciales. Se observó que la mayor producción para todos los tratamientos se acumula en la categoría Segunda, seguido de Primera, Tercera y Extra respectivamente. Al estudiar la categoría extra, al igual que ocurrió con el resto de análisis realizados para la evaluación del experimento **los mejores resultados se obtuvieron para los tratamientos de BM y de estiércol fresco de ovino combinado con vinazas de remolacha, seguidos por los tratamientos con vinazas de remolacha y estiércol fresco de ovino, y en último lugar el tratamiento con vinazas de vino.** Para la categoría Primera, las vinazas de remolacha fueron las únicas que presentaron diferencias estadísticamente significativas con el resto de tratamientos, mientras que para la categoría segunda los tratamientos que alcanzaron los valores más altos de fruto comercializable fueron los tratamientos con vinazas de remolacha y estiércol fresco de ovino. Por último para la categoría Tercera los tratamientos con vinazas de remolacha, ya sea sola o combinada fueron los que mayor cantidad de cosecha obtuvieron seguidos de del tratamiento con bromuro, estiércol fresco de ovino y vinazas de vino respectivamente.

Se puede concluir de modo general con respecto a la producción de pimientos, que en global **se observó que los tratamientos de BM y vinazas de remolacha combinadas con estiércol fresco de ovino fueron muy similares, seguido de los tratamientos con vinazas de remolacha y estiércol fresco de ovino, siendo las vinazas de vino las que obtuvieron menores producciones de pimiento.**

También se analizó la producción en el tiempo (Figs 4.12-16), observando que todos los tratamientos, excepto el de vinazas de vino, siguieron curvas de producción muy similares, siendo las líneas de tendencia semejantes.

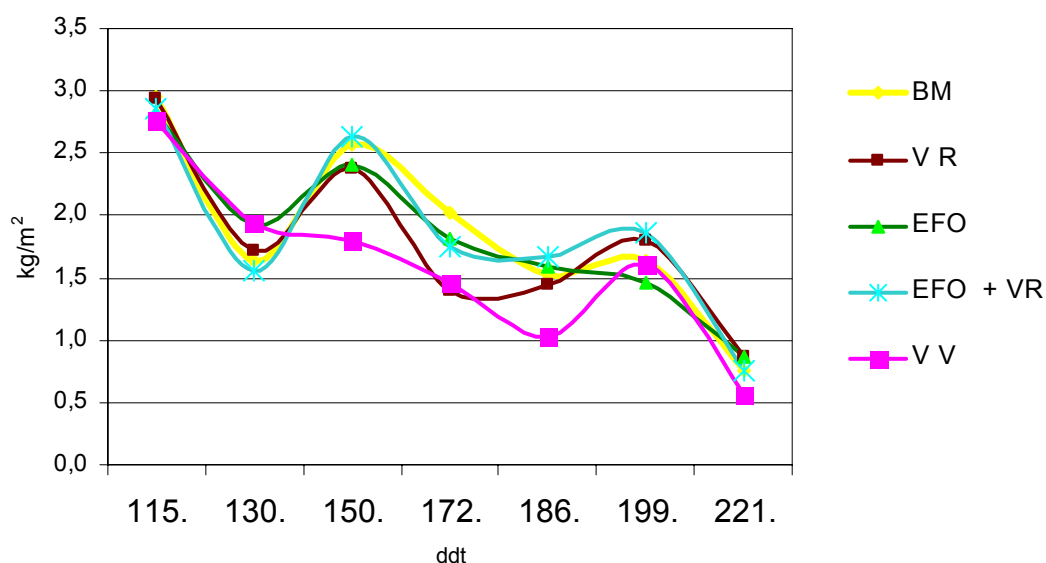


Figura 4.12. Evolución de la producción en el tiempo en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia).^(*)

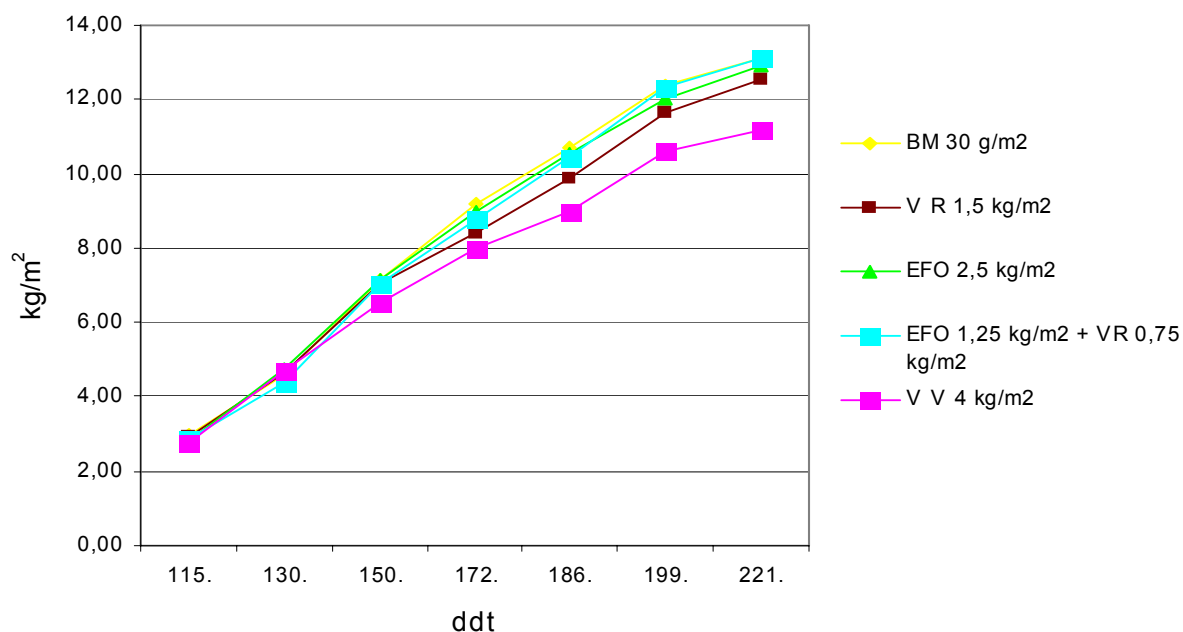


Figura 4.13. Evolución de la producción en el tiempo en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia).^(*)

^(*) ddt: días después del transplante; BM: bromuro de metilo 98:2 30 g/m² + plástico VIF; VR: vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización; EFO: estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización; EFO+VR: estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + vinazas de remolacha 0,75 kg/m² + solarización; VV: vinazas de vino 4 kg/m² + solarización).

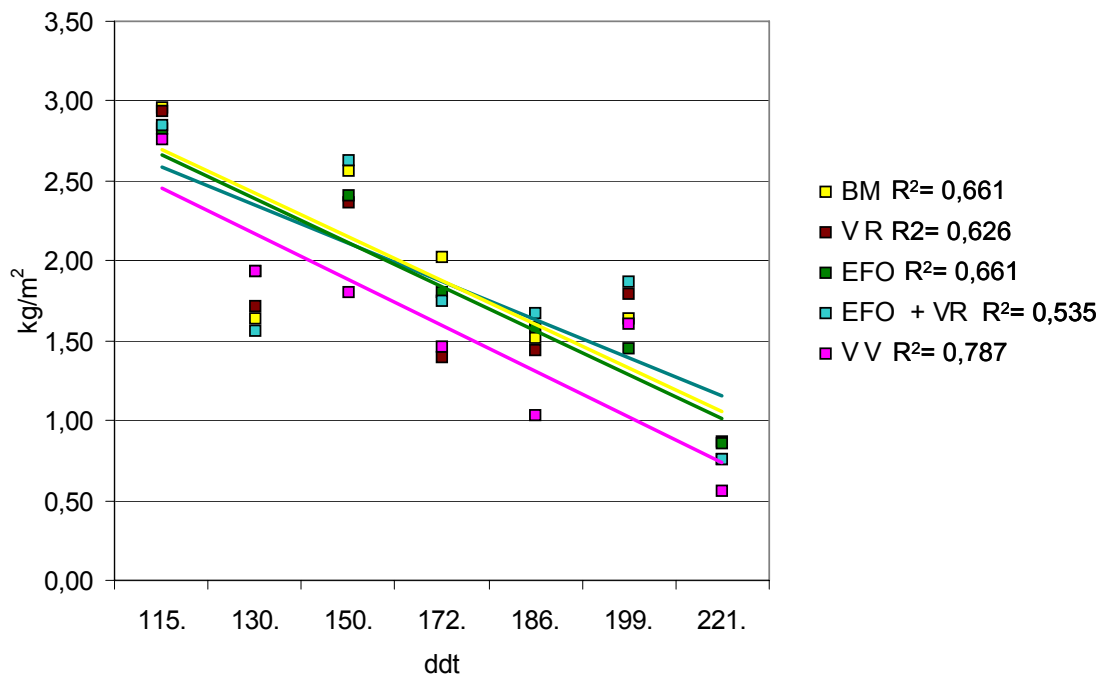


Figura 4.14. Líneas de tendencia de la producción en el tiempo en el invernadero CH de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) (ddt: días después del trasplante; BM: bromuro de metilo 98:2 30 g/m² + plástico VIF; VR: vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización; EFO: estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización; EFO+VR: estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + vinazas de remolacha 0,75 kg/m² + solarización; VV: vinazas de vino 4 kg/m²+ solarización).

En las Figs 4.12-14 se puede observar que los tratamientos que incorporaban vinazas de remolacha o de estiércol fresco de ovino ya sean solos o mezclados presentaron tendencias muy similares al BM en la producción en el tiempo. Sin embargo se observó que la producción de las vinazas de vino es inferior durante todo el cultivo de pimiento.

Se puede concluir de este ensayo de desinfección del suelo que los tratamientos con restos agrarios como son las vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 kg/m², estiércol fresco de ovino a 2,5 kg/m² y la mezcla de ambas a razón de 0,75 kg/m² y 1,25 kg/m² respectivamente combinados con solarización, pueden ser alternativas al BM a la dosis de 30 g/m² con una eficacia similar o incluso superior, pues se observa que la reducción de los daños causados por *M. incognita* son mayores, aunque no se encontrasen diferencias estadísticamente significativas. El tratamiento con BM obtuvo los niveles de producción más altos, sin embargo fue el tratamiento que peores resultados obtuvo cuando se analizaron los índices medios de nodulación y el porcentaje de plantas infectadas, con la excepción del tratamiento con vinazas de vino a la dosis de 4 l/m².

4.2.3. Control de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en Níjar (Almería)

En un invernadero comercial, que llevaba en producción ecológica desde 2006, se evaluó la eficacia del uso de las vinazas de remolacha y de los restos de cosecha de tomate y de sandía producidos en la propia explotación para el manejo de nematodos formadores de nódulos de género *Meloidogyne*. La incorporación de los restos de cosecha como materia orgánica biodesinfectante se realizó mediante un retranqueo del enarenado del suelo. La dosis de materia orgánica que se utilizó en el retranqueo estaba formada por una mezcla homogénea de estiércol fresco de ovino mezclado con los restos de cosecha a la proporción estiércol fresco de ovino/restos de cosecha = 1. Los restos de cosecha de tomate y sandía se incorporaron en la mezcla en la proporción de tomate/sandía = 1. A todos los tratamientos, incluso el testigo con el que comparamos, se les aplicó 5 kg/m² de la mezcla de materiales orgánicos. Los distintos tratamientos se diferenciaban unos de otros en función de la dosis de vinaza de remolacha incorporada, que fue de 2, 1,5, 1, 0,75 l/m².

Una vez que se comprobó la existencia de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, se realizó una determinación de los índices medios de nodulación (BRIDGE & PAGE 1980) del invernadero mediante un muestreo en malla de las raíces del cultivo anterior de sandía triploide cv “Fashion” con el polinizador cv “Premium 4001”, para posteriormente dividir la superficie de las parcelas y de los tratamientos (Tabla 4.48)

Tabla 4.48. Valores medios de índices de nodulación (BRIDGE & PAGE 1980) del cultivo de sandía anterior a la realización de experimento en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

| Tratamiento | Índice medio de nodulación | % plantas infectadas |
|---|----------------------------|----------------------|
| Retranqueo + solarización | 7,97 ± 1,04 a | 81,67 ± 12,86 a |
| 0,75 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 7,40 ± 0,78 a | 71,43 ± 3,89 a |
| 1 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 7,58 ± 2,0 a | 77,38 ± 17,98 a |
| 1,5 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 7,89 ± 1,20 a | 63,10 ± 26,48 a |
| 2 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 6,25 ± 1,27 a | 75,0 ± 20,34 a |
| Sig. asintótica | 0,340 | 0,770 |

^(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En la Tabla 4.48 se recogen los resultados de los índices de nodulación medios obtenidos después haber asignado las parcelas a cada tratamiento, observándose que el grado de la enfermedad fue elevado según la escala de BRIDGE & PAGE (1980), así como que la gran mayoría de plantas estaban infectadas por nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*.

Una vez comprobado que partimos de condiciones estadísticamente semejantes se realizó el retranqueo, se colocaron los plásticos y se procedió a la aplicación de las distintas dosis de vinazas de remolacha mediante el sistema de riego. El cultivo de tomate cv “Racymo”, portador del gen *Mi*, se transplantó el día 25 de julio de 2008 en un estado de 6 hojas verdaderas. El marco de plantación, adaptado a las condiciones de cultivo, fue de 0,6 m x 1 m. Con el objeto de mantener las condiciones óptimas de desarrollo radicular se hicieron coincidir los puntos de transplante con los goteros, con una densidad de 0,5 m x 1 m, resultando una distribución de un hueco por cada cinco plantas. Una vez que finalizó el cultivo, se realizó una toma de muestras para cuantificar las poblaciones de nematodos de la rizosfera de cinco plantas elegidas al azar (Tabla 4.49).

Tabla 4.49. Poblaciones de nematodos y enquitreidos después del cultivo de tomate en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería). Métodos de centrifugación en azúcar y Flegg modificado para doriláimidos (Individuos/100 cm³ suelo).^(*)

| Tratamiento | <i>Meloidogyne</i> (J ₂) | Doriláimidos | Rabdítidos | Enquitreidos |
|---|--------------------------------------|----------------|-------------------|---------------|
| Retranqueo + solarización | 46,0 ± 81,49 b ^(*) | 3,75 ± 2,06 b | 65,50 ± 26,95 a | 6,25 ± 5,91 a |
| 0,75 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 0,0 ± 0,0 a | 2,75 ± 2,22 ab | 128,0 ± 34,53 ab | 2,25 ± 0,96 a |
| 1 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 138,50 ± 26,0 ab | 3,75 ± 2,06 a |
| 1,5 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 0,0 ± 0,0 a | 0,75 ± 0,96 a | 124,50 ± 58,68 ab | 2,00 ± 2,31 a |
| 2 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 0,0 ± 0,0 a | 1,0 ± 2,0 ab | 193,0 ± 68,17 b | 4,25 ± 4,03 a |
| Sig. asintótica | 0,010 | 0,043 | 0,040 | 0,438 |

^(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En la Tabla 4.49 se recogen los resultados de los análisis de nematodos y enquitreidos del suelo después del cultivo de tomate. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos para las poblaciones de nematodos del suelo, pero no para las de enquitreidos, que disminuyeron en los tratamientos con vinazas de remolacha. **No se detectó la presencia de J₂ de *Meloidogyne* en ninguna de las parcelas en las que se habían aplicado vinazas de remolacha**, mientras que en tres de las cuatro parcelas del testigo se encontraron J₂ de *Meloidogyne*. Para las poblaciones de nematodos del grupo de los doriláimidos también se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y el tratamiento con vinazas de remolachas a las dosis de un 1 y 1,5 l/m² quedando el resto de tratamientos en una situación intermedia. No se detectó una tendencia clara en función de dosis, sin embargo si que se observó que las poblaciones son menores en los tratamientos con vinazas de remolacha. Al contrario de lo que ocurre para las poblaciones de doriláimidos, se observó que **las poblaciones de rabdítidos aumentaron en los tratamientos con vinazas de remolacha**, existiendo diferencias estadísticamente

significativas entre el testigo y la dosis más alta de vinazas de remolacha (2 l/m^2), quedando el resto de tratamientos en una situación intermedia. Además se estudiaron diversas variables de tomate en campo, después de haber realizado un muestreo en malla del 20% de las plantas del invernadero (Tabla 4.50).

Tabla 4.50. Variables de planta estudiadas después del cultivo de tomate en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

| Tratamiento | Índice medio de nodulación | % plantas infectadas | Producción kg/m^2 |
|---|----------------------------|----------------------|----------------------------|
| Retranqueo + solarización | $1,83 \pm 0,51$ b | $30,53 \pm 2,12$ b | $4,64 \pm 0,35$ a |
| 0,75 l/m^2 vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | $0,74 \pm 0,38$ a | $12,02 \pm 5,36$ a | $4,47 \pm 0,18$ a |
| 1 l/m^2 vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | $0,34 \pm 0,30$ a | $7,77 \pm 8,09$ a | $4,10 \pm 0,74$ a |
| 1,5 l/m^2 vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | $0,42 \pm 0,36$ a | $7,74 \pm 6,26$ a | $4,08 \pm 0,34$ a |
| 2 l/m^2 vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | $0,20 \pm 0,20$ a | $3,13 \pm 2,45$ a | $4,08 \pm 0,73$ a |
| Sig. asintótica | 0,016 | 0,011 | 0,205 |

^(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.50 se recogen los resultados obtenidos tras el análisis mediante un muestreo en malla del 12,5 % de las plantas de cada parcela, con objeto de establecer las zonas donde *Meloidogyne* estaba presente. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en los que se había aplicado vinazas de remolacha y el testigo para los valores de índice medio de nodulación y porcentaje de plantas infectadas por *Meloidogyne*. Se observó además, sobre todo en el % de plantas infectadas, que según aumentaba la dosis de vinazas de remolacha, disminuían los daños causados por los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en las plantas. Se comprobó al realizar el muestreo en malla que en los tratamientos testigo la aparición de plantas infectadas en el interior de las parcelas fue mayor, mientras que en el resto de tratamientos, donde la gran mayoría las plantas infectadas aparecieron en los bordes de las parcelas.

Debido a que el cultivo de tomate se realizó en invierno, época más desfavorable para el desarrollo de las especies termófilas de nematodos del género *Meloidogyne*, se analizaron cuatro de las raíces que mayor índice de nodulación presentaron, para observar cuáles eran los estadios de desarrollo de los individuos y a su vez poder comprobar si las plantas actuaban como cultivos trampa (Tabla 4.51).

Tabla 4.51. Análisis de 10 g de raíces de tomate noduladas al final del cultivo en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería). Método de COOLEN (1979) y NOMBELA Y BELLO (1983).

| Parcela | Tratamiento | Índice nodulación | Estadio de desarrollo <i>Meloidogyne</i> | | | |
|------------|---|-------------------|--|----------------|----------------|-----------|
| | | | J ₂ | J ₃ | J ₄ | Huevos |
| Parcela 10 | Retranqueo + solarización | 4 | ausencia | 4 | 15 | presencia |
| Parcela 17 | Retranqueo + solarización | 6 | ausencia | 52 | 0 | ausencia |
| Parcela 12 | 0,75 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 6 | presencia | 22 | 42 | presencia |
| Parcela 14 | 1 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 6 | presencia | 16 | 42 | presencia |

En la raíz analizada de la parcela 17, la que mayor índice de nodulación presentaba, no se observó la presencia de individuos J₂, J₄ ni de huevos, mientras que en el resto de raíces analizadas, si se observó la presencia los todos los estadios posibles, con la excepción de la raíz de la parcela 10 en la que no se observó ningún juvenil J₂ (Tabla 4.51). Si a su vez analizamos los datos obtenidos de la extracción de nematodos de suelo mediante el método de centrifugación en azúcar (NOMBELA & BELLO 1983) de la parcela 17 observamos, que tampoco se detectó la presencia de individuos J₂ (Tabla 4.49). Para comprobar estos resultados, se sembraron tomates cv “Marmande” en macetas con 250 g de suelo, con parte de la muestra recogida en campo. Se volvieron a comprobar los resultados, obteniendo la planta de la parcela 17 un índice igual a (0). Estos resultados nos confirman, que algunos años, en los cuales las temperaturas del ciclo de cultivo de otoño-invierno en Almería no son muy elevadas, como ocurrió en la campaña 2008/2009, las plantas pueden actuar como “trampa”, eliminando parte de las poblaciones de J₂ de *Meloidogyne*.

No sólo nos interesó la producción, sino también como fue la recolección en el tiempo (Figs 4.16-17). Las líneas de tendencia son las que mejor nos explican la evolución de la producción (Fig. 4.17). Se observó que la producción de tomate aumentaba según disminuían las dosis de vinazas de remolacha. Sin embargo al inicio de la recolección, el tratamiento con vinazas de remolacha a la dosis más elevada que era de 2 l/m² fue el que obtuvo la mayor cantidad de producto de primor, pero en cambio al final del cultivo fue la que menos produjo. Para el resto de dosis de vinazas de remolacha, es decir para 1 y 1,5 l/m² las producciones se encontraban en una situación intermedia. Se observó que la curva de producción en el tiempo de la dosis de 2 l/m², la más elevada las ensayadas, siempre se encontraba por debajo de la curva de producción del testigo, salvo al comienzo de la recolección.

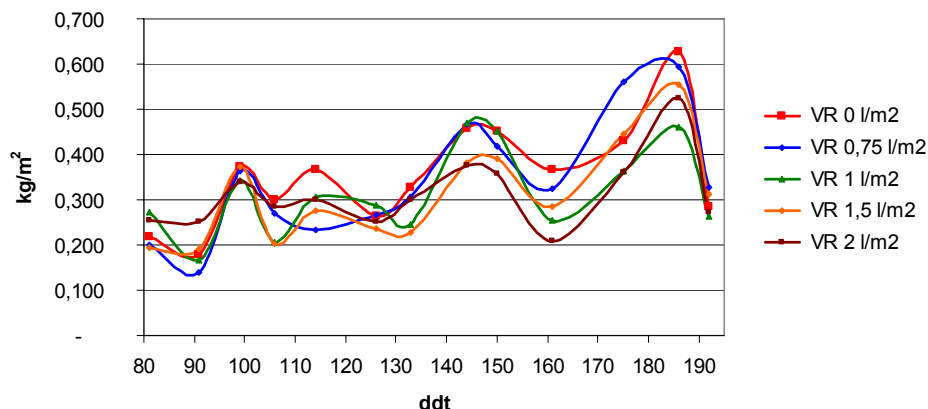


Figura 4.15. Evolución de la producción de tomate en el tiempo en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

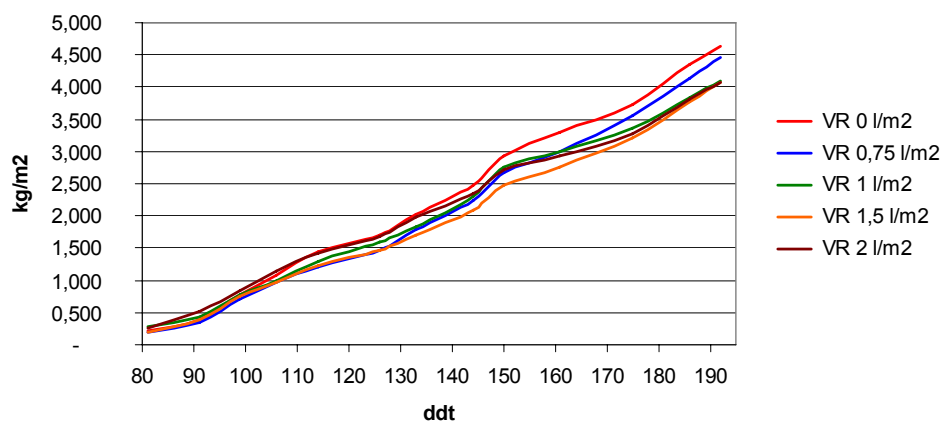


Figura 4.16. Producción de tomate en el tiempo en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

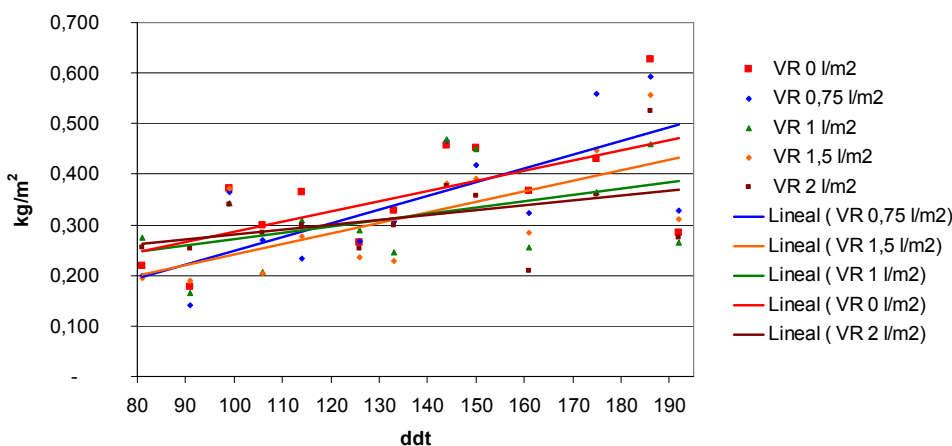


Figura 4.17. Líneas de tendencia la producción de tomate en el tiempo en el invernadero comercial de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

^(*) ddt: días después del transplante, VR 0 l/m² retranqueo + solarización, VR 0,75 l/m² retranqueo + 0,75 l/m² vinazas de remolacha + solarización, VR 1 l/m² retranqueo + 1 l/m² vinazas de remolacha + solarización, VR 1,5 l/m² retranqueo + 1,5 l/m² vinazas de remolacha + solarización, VR 2 l/m² retranqueo + 2 l/m² vinazas de remolacha + solarización).

Posteriormente se realizó un cultivo de pepino cv “Bowling” que duró desde marzo hasta mediados de junio. Una vez que se finalizó el periodo de cultivo del pepino se procedió a realizar un muestreo en malla del 20% de las plantas del invernadero para ver los resultados obtenidos después del segundo cultivo realizado tras la biodesinfección (Tabla 4.52).

Tabla 4.52. Variables de planta estudiadas después del cultivo de pepino en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

| Tratamiento | Índice de nodulación medio | % plantas infectadas | Producción kg/m ² |
|---|----------------------------|----------------------|------------------------------|
| Retranqueo + solarización | 4,44 ± 1,54 b | 56,55 ± 19,18 a | 4,47 ± 0,49 a |
| 0,75 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 2,39 ± 2,35 b | 31,28 ± 32,85 a | 4,64 ± 0,15 a |
| 1 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 2,26 ± 2,62 b | 29,17 ± 31,01 a | 4,95 ± 0,51 a |
| 1,5 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 1,46 ± 1,26 b | 21,43 ± 16,03 a | 4,86 ± 0,34 a |
| 2 l/m ² vinaza de remolacha + retranqueo + solarización | 0,16 ± 0,11 a | 4,17 ± 2,99 a | 4,72 ± 0,67 a |
| Significación asintótica | 0,04 | 0,061 | 0,534 |

^(*) Comparaciones mediante ANOVA MSD (mínima diferencia significativa) La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Tras el cultivo de pepino se procedió a la toma de datos (Tabla 4.52). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el índice medio de nodulación entre el tratamiento que llevaba 2 l/m² de vinazas de remolacha en relación con el resto, mientras que no se observaron diferencias cuando se analizó el porcentaje de plantas infectadas. Por otro lado, la producción aumentó según lo hacían las dosis de vinazas de remolacha, a la vez que se observó que tanto el índice medio de nodulación como el porcentaje de plantas infectadas disminuyó según aumentaba la dosis de vinazas de remolacha. Al haber realizado un muestreo en malla, se observó que en el tratamiento con 2 l/m² las plantas que aparecieron infectadas en todas las parcelas de dicho tratamiento se encontraban cercanas a los bordes, donde por otro lado se conoce que disminuye la eficacia en la desinfección de suelos con cualquier alternativa. Según disminuyó la dosis de vinazas de remolacha la distribución de las plantas infectadas ocupó más superficie, encontrando sólo una parcelas de las cuatro que formaban el tratamiento de 1,5 l/m² con un rodal de plantas infectadas en el interior de la superficie. En el tratamiento con 1 l/m² ocurrió lo mismo con dos de las cuatro parcelas en las que aparecieron mayor número de rodales, mientras que para el tratamiento de 0,75 l/m² tres parcelas tuvieron la mayoría de la superficie ocupada por rodales salvo una parcela donde no apareció ninguna planta infectada. Por último en el tratamiento que no llevaba dosis de vinazas de remolacha las cuatro parcelas del tratamiento tenían la mayoría la superficie ocupada por rodales. Por otro lado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos

en la producción del cultivo, que fue mayor en los tratamientos con vinazas de remolacha con respecto al testigo. A la hora de analizar los resultados del ensayo se deben de tener en cuenta los dos cultivos que se realizaron en el año. Por un lado la producción del cultivo del tomate fue mayor en el testigo (Tabla 4.51), sin embargo en el cultivo de pepino, el testigo fue el que menos producción registró.

Al igual que en el cultivo de tomate, para el cultivo de pepino nos interesó también conocer como se distribuyó la producción en el tiempo (Figs 4.18-20). En este caso no se observaron tantas diferencias como en el cultivo anterior de tomate (Figs 15-17). Sin embargo, si se pudo observar que las producciones aumentaban según lo hacía la dosis de vinazas de remolacha empleada, con la excepción de la dosis máxima de 2 l/m^2 quizás por la existencia de cierta fitotoxicidad. **Las dosis de 1 y $1,5 \text{ l/m}^2$ fueron las más adecuadas en la técnica de manejo del enarenado propuesta en este trabajo.**

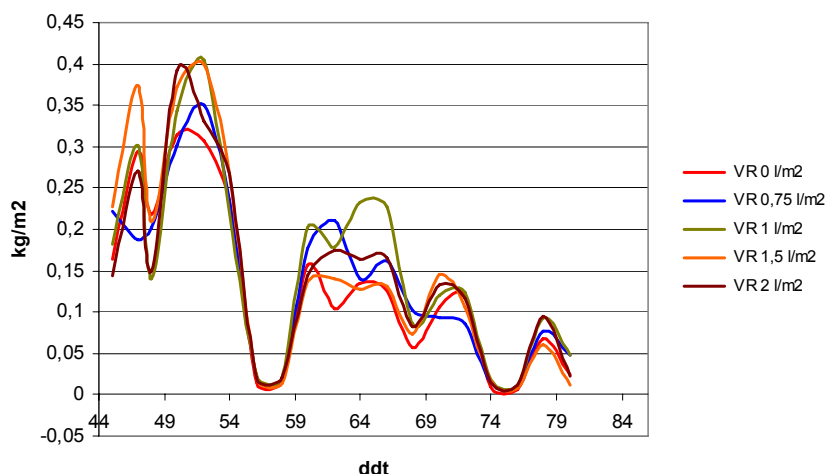


Figura 4.18. Producción de pepino en el tiempo en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

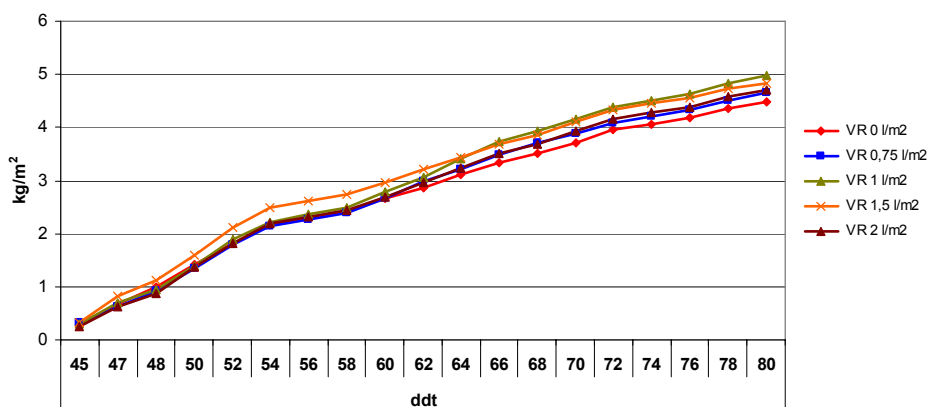


Figura 4.19. Producción de pepino en el tiempo en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

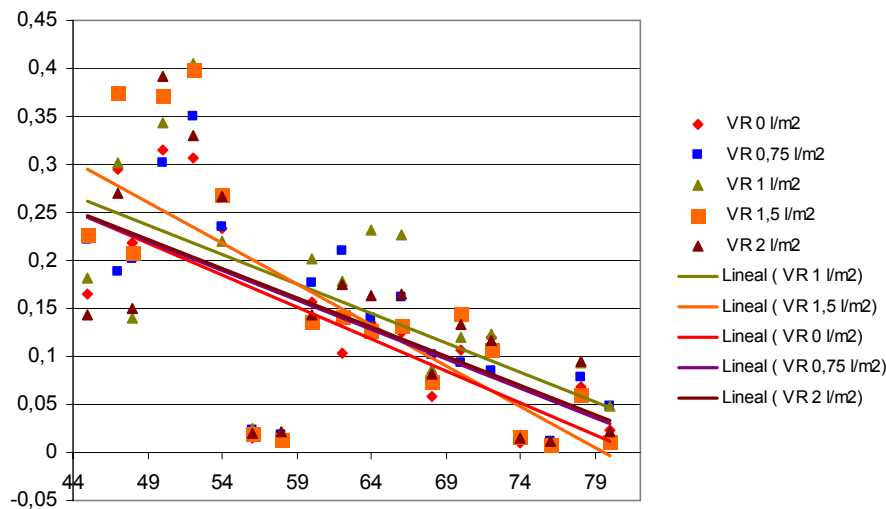


Figura 4.20. Producción de pepino en el tiempo en el invernadero de San Isidro de Níjar (Almería).^(*)

^(*)ddt: días después del trasplante, VR 0 l/m² retransplanteo + solarización, VR 0,75 l/m² retransplanteo + 0,75 l/m² vinazas de remolacha + solarización, VR 1 l/m² retransplanteo + 1 l/m² vinazas de remolacha + solarización, VR 1,5 l/m² retransplanteo + 1,5 l/m² vinazas de remolacha + solarización, VR 2 l/m² retransplanteo + 2 l/m² vinazas de remolacha + solarización).

Se puede concluir de este ensayo que el retransplanteo utilizando estiércol fresco de ovino y restos de cosecha para reducir costes, combinado con la solarización puede ser una alternativa eficaz de manejo de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. La eficacia mejora cuando además se complementa con la utilización de vinazas de remolacha, disminuyendo el índice medio de nodulación y el porcentaje de plantas infectadas según aumenta la dosis. Sin embargo para las dosis altas la producción obtenida es menor, por lo que se recomiendan dosis intermedias de 1 y 1,5 l/m² aunque el control de *Meloidogyne* no sea el que obtenga más eficacia.

4.3. ENSAYOS EN VIÑEDOS

Se estudió el efecto de la aplicación de subproductos agroindustriales sobre las poblaciones de nematodos, especialmente el efecto de la aplicación de estiércol fresco de caprino cuando se va a realizar la replantación de un viñedo (4.3.1) y por otro lado el efecto de la utilización de subproductos líquidos de la industria alcoholera como son las vinazas de remolacha y de vino sobre viñedos establecidos en los cuales se conoce la existencia de *Xiphinema index*, transmisor del virus del GFLV, con el fin de reducir las poblaciones para que éstas sean menores cuando haya que replantar los viñedos para ver si así posteriormente se puede reducir a la vez la duración del barbecho tras el arranque (4.3.2).

4.3.1. Biodesinfección en replantación de viñedo con estiércol de caprino

La biodesinfección de suelos en la replantación del viñedo se planteó en un principio que se realizase a bandas en las líneas donde había estado el antiguo viñedo utilizando estiércol fresco de ovino o caprino combinada con plástico (GÓMEZ SORIANO *et al.* 2006). Sin embargo en este estudio se propuso que la aplicación del estiércol se realizase en toda la superficie para tratar de reducir costes y de no incluir la utilización del plástico. La biodesinfección de suelos se realizó en una finca de viñedo vecina a la que se utilizó para comprobar la eficacia cuando se realiza a bandas. La parcela en estudio tiene una extensión aproximada de una hectárea de vid de la variedad “Monastrell”. El 27-4-2004, cuando todavía no se había realizado la eliminación de las platas de vid, se recogieron 206 muestras a una profundidad >30 cm, 103 de las filas de vid y 103 de las calles. De las muestras tomadas en las filas de vid, 94 resultaron positivas (91,3%), llegando a alcanzar una población máxima de 71 individuos/200 cm³ suelo, con una media de 14 individuos (Tabla 4.53, Fig. 4.21), mientras que en las calles se encontraron 69 muestras positivas (67,0%), con una población máxima de 75 individuos/200 cm³ suelo y una media de ocho individuos/200 cm³ (Tabla 4.54). **Los resultados de este muestreo nos confirman que la biodesinfección de suelos se debe de hacer en toda la superficie de las parcelas**, determinando además su eficacia a lo largo del perfil, tratando de optimizar la dosis y el método de aplicación (Fig. 4.21).

Tabla 4.53. Poblaciones de *X. index* en las muestras de suelo tomadas alrededor de las cepas de vid en el viñedo de Jumilla (Murcia), muestreo del 27-4-04 (Individuos/200 cm³ suelo).

| Fila \ Columna | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | Total | Media |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----|-------|-----------|
| 14 | 10 | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 10 | 10 |
| 13 | 12 | 71 | 36 | – | – | – | – | – | – | – | 119 | 40 |
| 12 | 45 | 5 | 3 | 0 | – | – | – | – | – | – | 53 | 13 |
| 11 | 8 | 28 | 2 | 1 | 0 | 3 | – | – | – | – | 42 | 7 |
| 10 | 10 | 7 | 9 | 11 | 8 | 13 | – | – | – | – | 58 | 10 |
| 9 | 25 | 0 | 8 | 31 | 2 | 7 | 57 | 8 | 43 | 6 | 187 | 19 |
| 8 | 37 | 2 | 5 | 5 | 2 | 27 | 31 | 11 | 4 | 12 | 136 | 14 |
| 7 | 0 | 0 | 14 | 21 | 0 | 1 | 1 | 6 | 5 | – | 48 | 5 |
| 6 | 5 | 2 | 3 | 24 | 3 | 65 | 2 | 68 | 0 | – | 172 | 19 |
| 5 | 10 | 22 | 1 | 7 | 18 | 4 | 7 | 20 | 1 | – | 90 | 10 |
| 4 | 7 | 17 | 27 | 9 | 0 | 11 | 4 | 49 | 20 | – | 144 | 16 |
| 3 | 38 | 25 | 22 | 1 | 8 | 15 | 4 | 8 | 53 | – | 174 | 19 |
| 2 | 7 | 15 | 30 | 23 | 16 | 3 | 3 | 5 | 32 | – | 134 | 15 |
| 1 | 7 | 0 | 2 | 3 | 25 | 3 | 10 | 5 | 20 | – | 75 | 8 |
| Total | 221 | 194 | 162 | 136 | 82 | 152 | 119 | 180 | 178 | 18 | 1442 | – |
| Media | 16 | 15 | 12 | 11 | 7 | 14 | 13 | 20 | 20 | 9 | 14 | – |

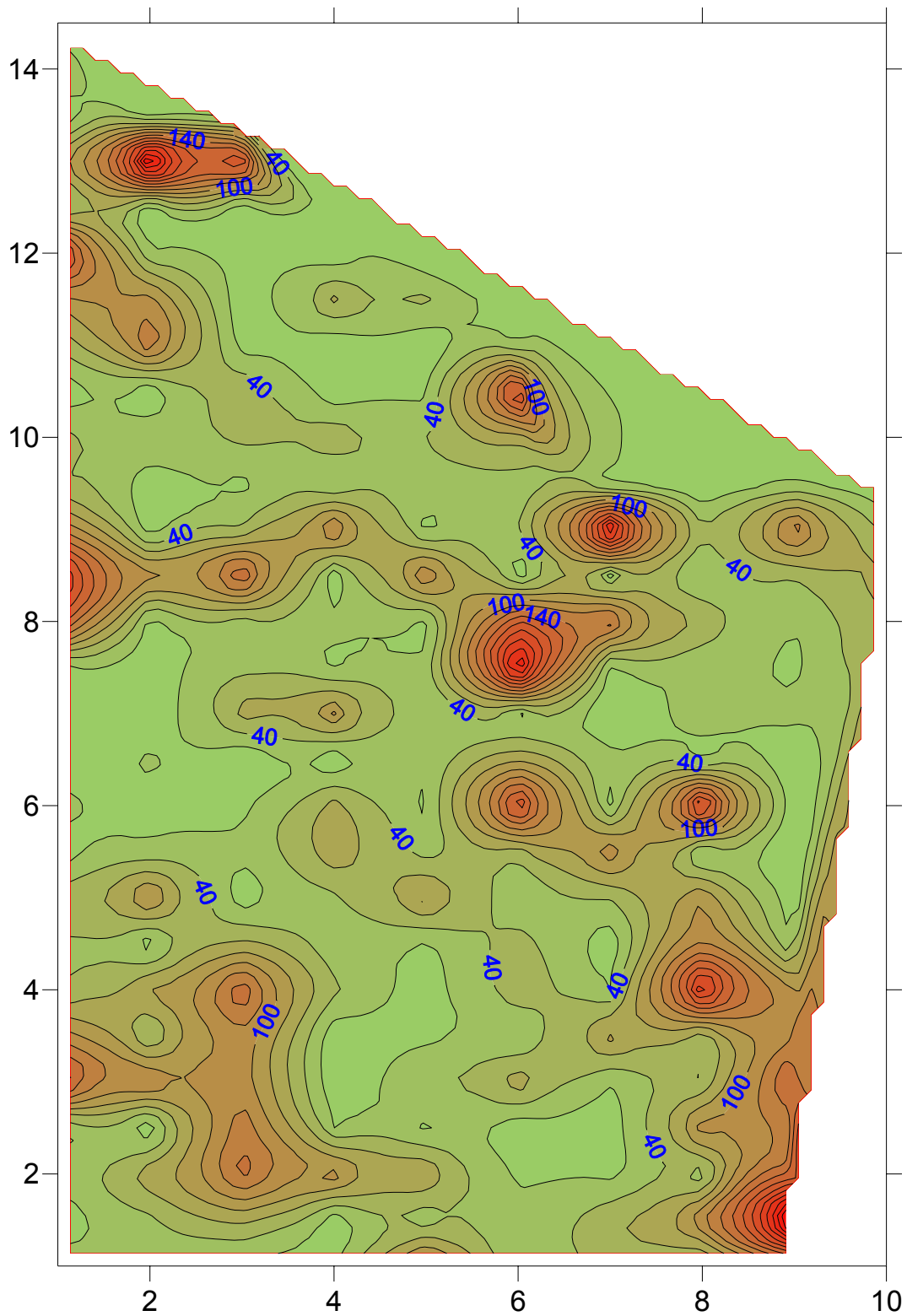


Figura 4.21. Distribución de *X. index* en el viñedo de Jumilla, muestreo del 27-4-04 (Individuos/kg suelo).

Tabla 4.54. Poblaciones de *X. index* en las muestras de suelo tomadas en las calles del viñedo de Jumilla (Murcia), muestreo del 27-4-04 (Individuos/200 cm³ suelo).

| Fila | Columna | | | | | | | | | | Total | Media |
|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | |
| 14 | 1 | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 1 | 1 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | – | – | – | – | – | – | – | 0 | 0 |
| 12 | 5 | 0 | 0 | 0 | – | – | – | – | – | – | 5 | 1 |
| 11 | 18 | 21 | 1 | 18 | 9 | 0 | – | – | – | – | 67 | 11 |
| 10 | 1 | 0 | 12 | 0 | 3 | 30 | – | – | – | – | 46 | 8 |
| 9 | 8 | 2 | 0 | 0 | 6 | 5 | 1 | 0 | 4 | 0 | 26 | 3 |
| 8 | 48 | 21 | 34 | 1 | 25 | 0 | 0 | 0 | 8 | 14 | 153 | 15 |
| 7 | 0 | 0 | 7 | 3 | 5 | 59 | 2 | 5 | 0 | – | 81 | 9 |
| 6 | 0 | 20 | 0 | 0 | 5 | 15 | 5 | 0 | 0 | – | 45 | 5 |
| 5 | 1 | 5 | 5 | 15 | 6 | 9 | 19 | 1 | 0 | – | 61 | 7 |
| 4 | 8 | 1 | 0 | 5 | 0 | 15 | 0 | 24 | 0 | – | 56 | 6 |
| 3 | 23 | 7 | 23 | 1 | 3 | 3 | 18 | 8 | 28 | – | 114 | 13 |
| 2 | 2 | 0 | 32 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | 38 | 4 |
| 1 | 0 | 7 | 12 | 0 | 5 | 6 | 10 | 23 | 75 | – | 138 | 1 |
| Total | 115 | 85 | 126 | 43 | 73 | 143 | 56 | 61 | 115 | 14 | 831 | – |
| Media | 8 | 7 | 10 | 4 | 7 | 13 | 6 | 7 | 13 | 7 | 8 | – |

4.3.1.1. Eficacia del barbecho en el control de *X. index*. Después de arrancar el viñedo en junio de 2004, se realizó una nueva toma de muestras de suelo el 5-10-2004, para determinar el efecto del barbecho después del verano (**tres meses después**), antes de que se realizase la aplicación del estiércol fresco de caprino más gallinaza, tomando 74 muestras entre 0-30 cm y otras 74 a más de 30 cm. De las muestras recogidas entre 0-30 cm, 13 resultaron positivas (17,6%), con un máximo de cuatro individuos/200 cm³ suelo (Tabla 4.55), mientras que de las recogidas a más de 30 cm resultaron 26 positivas (35,1%), alcanzando un máximo de 10 individuos/200 cm³ suelo (Tabla 4.56, Fig. 4.22). Como puede observarse el barbecho había reducido considerablemente las poblaciones de *X. index* con respecto al muestreo anterior (Tabla 4.57).

Tabla 4.55. Influencia del barbecho sobre las poblaciones de *X. index* entre 0-30 cm en el viñedo de Jumilla (Murcia), muestreo del 5-10-04 (Individuos/200 cm³ suelo).

| Fila | Columna | | | | | | | | | Total | Media |
|-------|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | |
| 10 | 1 | 0 | 0 | – | – | – | – | – | – | 1 | 1 |
| 9 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | – | – | – | – | 2 | 1 |
| 8 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | – | 5 | 1 |
| 7 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| 6 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 |
| 5 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 4 | 1 | 0 | – | 8 | 1 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | – | 2 | 1 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | 0 | 0 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | 0 | 0 |
| Total | 2 | 2 | 7 | 6 | 0 | 7 | 1 | 0 | 0 | 25 | – |
| Media | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | – |

Tabla 4.56. Influencia del barbecho sobre las poblaciones de *X. index* en el viñedo de Jumilla (Murcia) a >30 cm, muestreo del 5-10-04 (Individuos/200/cm³ suelo).

| Columna | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | Total | Media |
|--------------|--|---|---|----|---|---|---|----|----|---|-------|-------|
| Fila | | | | | | | | | | | | |
| 10 | | 0 | 0 | 0 | – | – | – | – | – | – | 0 | 0 |
| 9 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | – | – | – | – | 1 | 1 |
| 8 | | 1 | 1 | 2 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | | 8 | 1 |
| 7 | | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 |
| 6 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 3 | 1 | 0 | – | 7 | 1 |
| 4 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 4 | 0 | – | 7 | 1 |
| 3 | | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 3 | 1 | – | 7 | 1 |
| 2 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 10 | – | 18 | 2 |
| 1 | | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3 | – | 7 | 1 |
| Total | | 2 | 4 | 10 | 5 | 4 | 7 | 11 | 14 | 1 | 58 | – |
| Media | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | – |

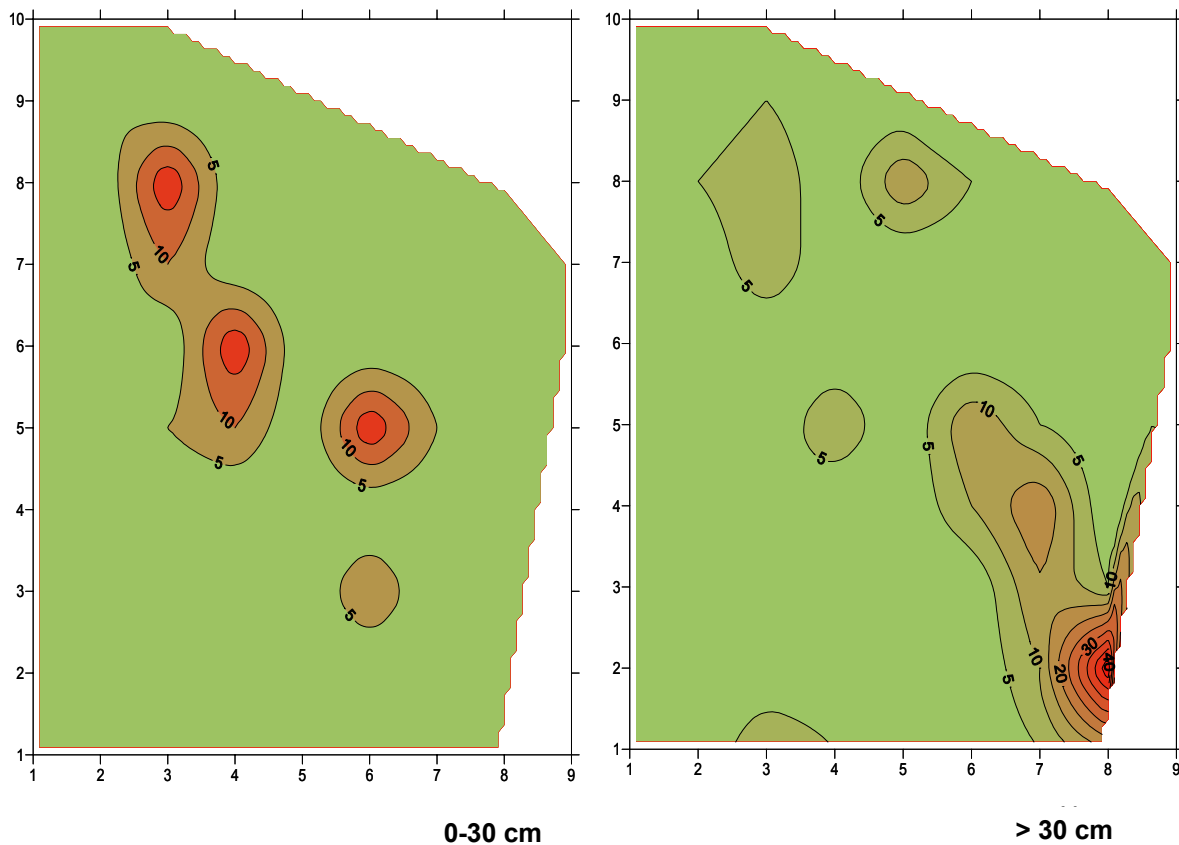


Figura 4.22. Efecto del barbecho sobre *X. index* en el viñedo de Jumilla (Individuos/kg suelo).

Posteriormente, nueve meses después de recogidas las muestras (17-01-2005) se analizaron doce muestras que resultaron positivas en el muestreo del 27-4-2004. Las muestras se habían conservado en una cámara frigorífica a 4 °C, con poblaciones máximas de 75 individuos/200 cm³ suelo y con una media de 32 individuos/200 cm³ suelo. En estos análisis se encontraron

poblaciones máximas y medias de siete y tres individuos 200 cm^3 suelo respectivamente, lo que representa una reducción del 92,1% (Tabla 4.57). Las mismas muestras se extrajeron por centrifugación para determinar la presencia de *Macroposthonia xenoplax* resultando todas negativas para este nematodo.

Tabla 4.57. Efecto de la conservación de las muestras sobre las poblaciones de *X. index* después de nueve meses (Individuos/ 200 cm^3 suelo).

| Muestras | Fecha extracción | |
|----------------|------------------|------------|
| | 27-4-2004 | 17-01-2005 |
| 1.2C (26.418) | 7 | 0 |
| 1.8C (26.424) | 10 | 3 |
| 1.9C (26.425) | 75 | 5 |
| 7.6C (26.476) | 59 | 4 |
| 8.1C (26.480) | 48 | 7 |
| 8.2C (26.481) | 22 | 1 |
| 8.3C (26.482) | 34 | 4 |
| 8.5C (26.484) | 25 | 2 |
| 10.3C (26.502) | 12 | 2 |
| 11.1C (26.506) | 48 | 0 |
| 11.2C (26.507) | 21 | 1 |
| 11.4C (26.509) | 18 | 1 |
| Total | 379 | 30 |
| Mín-Máx | 7-75 | 0-7 |
| Media | 31,58 | 2,5 |

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia que tiene el barbecho en el control de *X. index* y *M. xenoplax*, así como la necesidad de aplicar la biodesinfección de suelos en el momento inmediatamente posterior al arranque del viñedo para evitar que los nematodos se desplacen en profundidad.

4.3.1.2. Eficacia de la biodesinfección de suelos en toda la superficie. Se aplicaron 50 t/ha de estiércol fresco de caprino más gallinaza (proporción 7:3) el 15-3-2005 (Fig. 4.23). El 29-4-2005 (mes y medio después) se realizó una toma de muestras de suelo, recogiendo 90 muestras entre 0-30 cm, de las que sólo seis fueron positivas (6,7%), con un número máximo de cuatro individuos/ 200 cm^3 suelo, de los cuales la mayoría eran juveniles (Tabla 4.58). De las 90 muestras recogidas a > 30 cm, 19 resultaron positivas (21,1%), con un máximo de tres individuos/ 200 cm^3 suelo, la mayoría juveniles, sólo una muestra presentaba 10 individuos/ 200 cm^3 suelo (Tabla 4.59). En el ensayo se dejó como testigo sin biodesinfectar la primera fila de la parte inferior de la parcela, subdivida en dos filas, en las que entre 0-30 cm

no aparece ninguna muestra positiva, mientras que tres muestras fueron positivas a >30 cm, con sólo un individuo/200 cm³ de suelo (de ellos en dos muestras eran juveniles). Se realizaron distintos análisis estadísticos de los resultados obtenidos, en los que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la zona tratada y la zona que se deja como testigo, por lo que en este experimento no se debe obviar la influencia del barbecho en la eliminación de las poblaciones de *X. index*. **Se debe señalar que por lo general las muestras positivas aparecieron en las zonas donde la materia orgánica fue escasa, o bien puede ocurrir también que los juveniles cuando están mudando puedan presentar resistencia al efecto biodesinfectante de la materia orgánica, pero conviene recordar que *X. index* pierde el virus con la muda.** En experimentos de laboratorio en soluciones acuosas con productos que causan la muerte de los adultos de *X. index*, como pueden ser las vinazas de remolacha, se observó que cuando se introducen en la solución individuos que están mudando, el tiempo de exposición necesario hasta que se produce la muerte de estos individuos es mayor.



Figura 4.23. Aplicación de biodesinfección de suelos en toda la superficie, marzo 2005.

Se debe destacar que las poblaciones de *X. index* se eliminaron prácticamente en todas las filas, salvo en la fila tres (Tablas 4.58-60), posiblemente debido a una incorporación incorrecta del estiércol o a una mayor humedad del suelo. En esta fila todas las muestras

positivas tuvieron poblaciones inferiores a cuatro individuos/200 cm³ de suelo, salvo una en la que se detectaron 10 individuos/200 cm³ de suelo, de los que la mayoría eran juveniles (Fig. 4.24). Por todo ello se recomienda hacer labores en el suelo durante el verano para intentar eliminar los nematodos sobrevivientes, así como realizar perfiles que permitan conocer la situación de las poblaciones a profundidades > 60 cm.

Tabla 4.58. Efecto de la biodesinfección de suelos con estiércol fresco de caprino sobre las poblaciones de *X. index* en el viñedo de Jumilla (Murcia) entre 0-20 cm (Individuos/200 cm³ suelo, 29-4-05).

| Fila | Columna | | | | | | | | | | Total | Media |
|--------------|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | | |
| 11 | 0 | 0 | 0 | – | – | – | – | – | – | – | 0 | 0 |
| 10 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | – | – | 1 | 1 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | – | – | – | – | 2 | 1 |
| 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | – | – | 6 | 1 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | 1 | 1 |
| T1-II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | 0 | 0 |
| T1-I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | 0 | 0 |
| Total | 1 | 0 | 1 | 3 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | – |
| Media | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | – |

Tabla 4.59. Efecto de la biodesinfección de suelos con estiércol fresco de caprino sobre las poblaciones de *X. index* en el viñedo de Jumilla (Murcia) a >20 cm (Individuos/200 cm³ suelo, 29-4-05).

| Fila | Columna | | | | | | | | | | Total | Media |
|--------------|---------|---|---|----|---|---|---|---|---|---|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | | |
| 11 | 0 | 0 | 0 | – | – | – | – | – | – | – | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | – | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | – | – | – | – | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 |
| 7 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | – | 5 | 1 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 3 | 1 | 10 | 1 | 2 | 0 | 1 | – | – | 18 | 2 |
| 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | – | – | 3 | 1 |
| T1-II | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | – | – | 2 | 1 |
| T1-I | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | – | – | 1 | 1 |
| Total | 2 | 7 | 2 | 12 | 1 | 3 | 1 | 4 | 1 | 1 | 33 | – |
| Media | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | – |

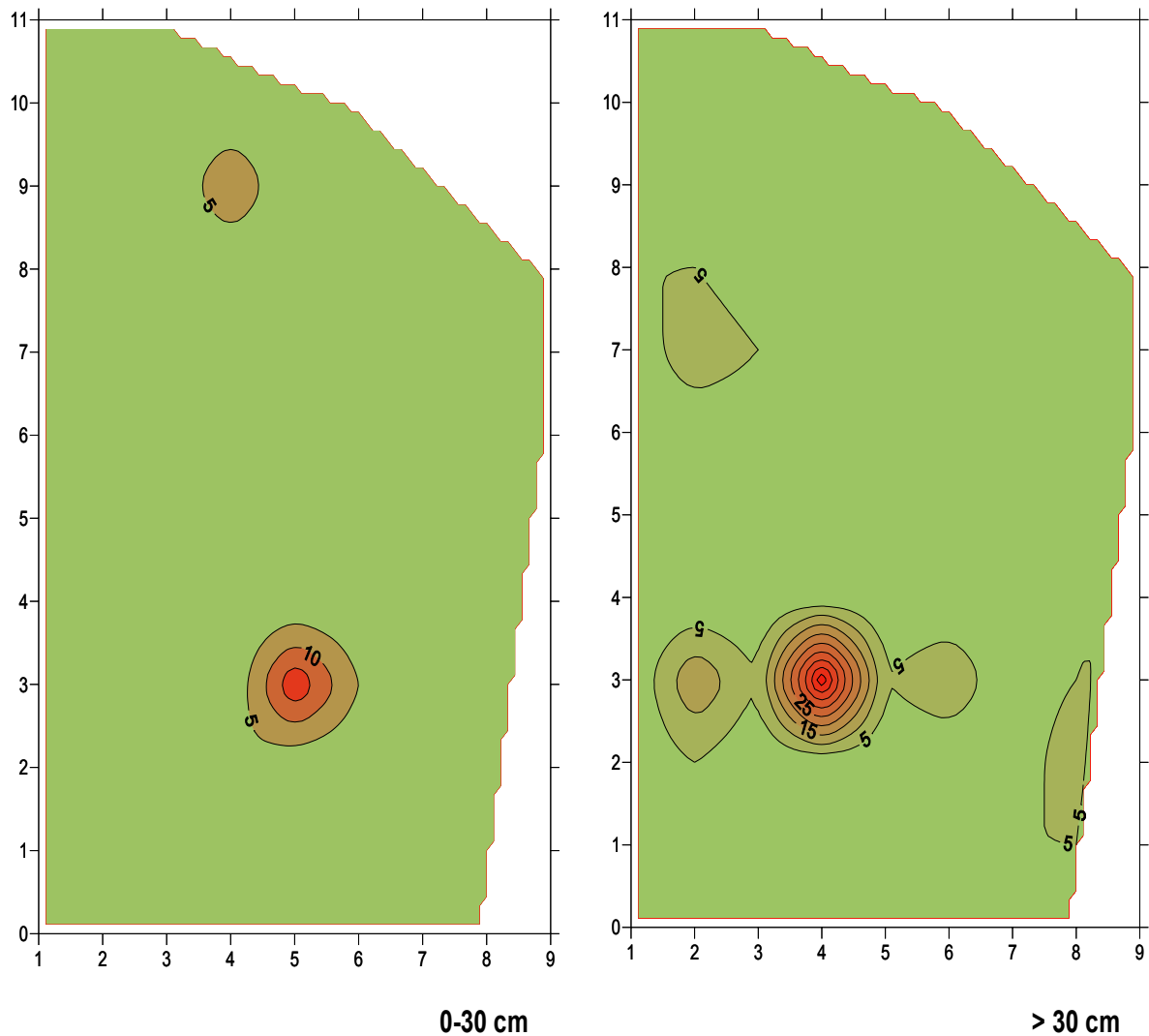


Figura 4.24. Efecto de la biodesinfección de suelos sobre *X. index* en el viñedo de Jumilla, muestreo del 2-9-2005 (Individuos/kg suelo).

El 2-9-05 se realizó una toma de muestras de suelo a >30 cm en los puntos que fueron positivos en los muestreos anteriores. Se observó sólo una muestra positiva en la zona testigo (punto 1.1) y otra en la fila 2 del área tratada con estiércol (punto 2.8), ambas con un individuo/200 cm³ suelo en cada una, mientras que en la fila 7 (punto 7.9) apareció otra con dos individuos/200 cm³ de suelo, uno de los cuales era un juvenil. Se debe de tener en cuenta además que en una apertura de perfiles de suelo para estudiar la influencia de la biodesinfección de suelos en profundidad (Apartado 3.3.1.3), cuatro de ellos resultaron positivos entre 0-60 cm, que corresponden a los puntos 5.7, 7.8, 10.4 y 11.2 (Fig. 4.25).

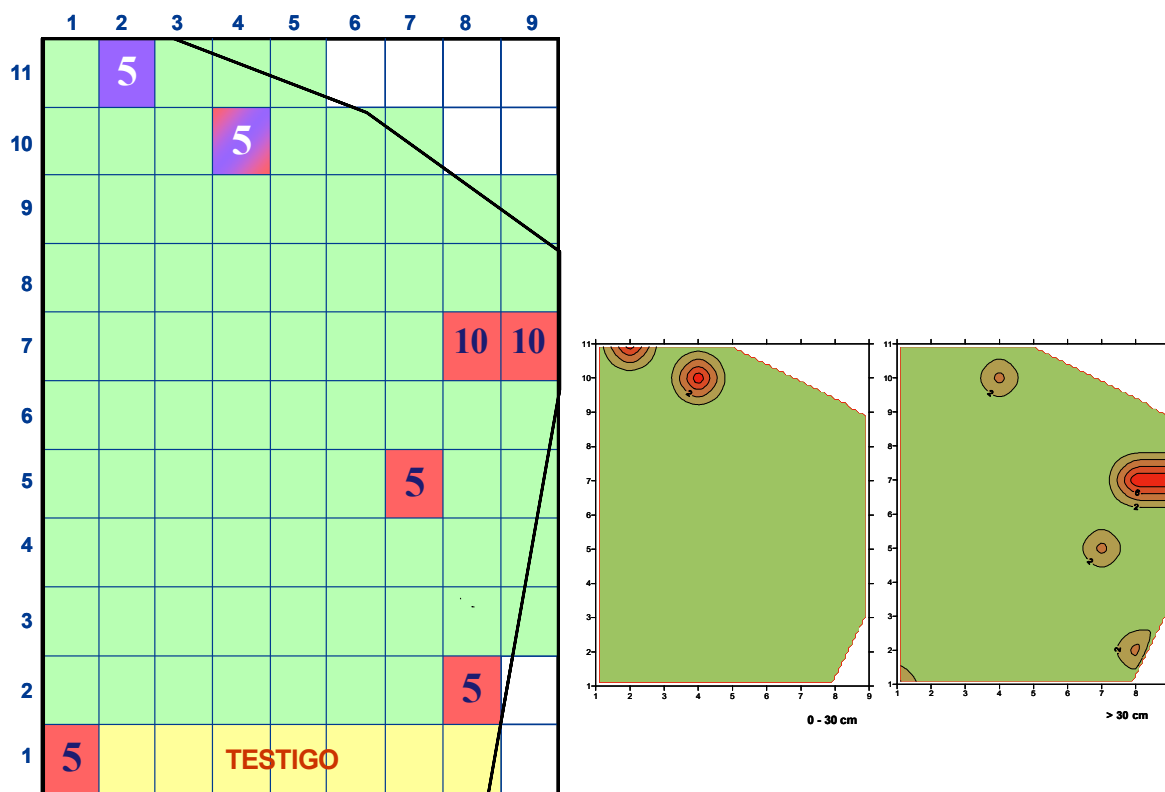


Figura 4.25. Efecto de la biodesinfección de suelos entre 0-60 cm sobre *X. index* en el viñedo de Jumilla (Individuos/kg suelo).

4.3.1.3. Eficacia de la biodesinfección a lo largo del perfil del suelo. Para determinar que ocurre a lo largo del perfil del suelo después de la biodesinfección se realizaron dos perfiles en la zona testigo y siete en la zona biodesinfectada (18-08-05). Se tomaron seis muestras por perfil, una cada 30 cm de profundidad, hasta los 180 cm, con la excepción del perfil 5 que estaba en el borde de la parcela en el que apareció una costra caliza a los 140 cm de profundidad por lo que en el sólo se tomaron cinco muestras. Los perfiles se realizaron en diagonal cada dos filas y cada dos columnas (Figs 4.26 & 27). En los perfiles testigo sólo una muestra fue positiva entre 120-150 cm de profundidad con ocho individuos/200 cm³ suelo (punto 1.2). Los individuos que aparecieron en esta muestra estaban todos parasitados por hongos. En los perfiles de la zona biodesinfectada muestreados sólo cuatro presentaron muestras positivas entre 0-60 cm de profundidad (puntos 5.6, 7.8, 10.4, 11.2), con un máximo de dos individuos/200 cm³ suelo. A mayores profundidades, sólo el perfil 6 que se encontraba en el borde de la parcela y en donde en el muestreo previo al arranque de la viña se había encontrado un foco de *X. index* con una densidad de 57 individuos/200 cm³ suelo, apareció una muestra positiva entre 120-150 cm de profundidad, con siete individuos/200 cm³ suelo, cuatro de ellos juveniles (Tabla 4.60, Fig. 4.27). Se observó que, por lo general, no aparecieron raíces vivas entre 0-60 cm y que a > 60 cm de profundidad en la mayoría de los

casos estaban recubiertas por carbonato cálcico, por lo que los nematodos no pueden parasitarlas (Fig. 4.28). Al igual que ocurrió en los resultados obtenidos anteriormente (Tablas 4.58 & 59) no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la zona tratada con estiércol fresco de caprino más gallinaza y la zona testigo.



Figura 4.26. Distribución de perfiles en la zona biodesinfectada en el viñedo de Jumilla, muestreo 18-8-05.

Tabla 4.60. Efecto de la biodesinfección sobre las poblaciones de *X. index* a lo largo del perfil (Individuos/200 cm³ suelo).

| Perfil | Profundidad (cm) | | | | | |
|----------------------|------------------|---------|-------|--------|---------|-------|
| | 0-30 | 30-60 | 60-90 | 90-120 | 120-150 | > 150 |
| Testigo 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 |
| Testigo 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | --- |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 |
| 7 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Muestras positivas | 2 | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Media (Mín.–Máx.) | 1 | 1 (1-2) | 0 | 0 | 8 (7-8) | 0 |
| % muestras positivas | 22,2 | 33,3 | 0 | 0 | 22,2 | 0 |

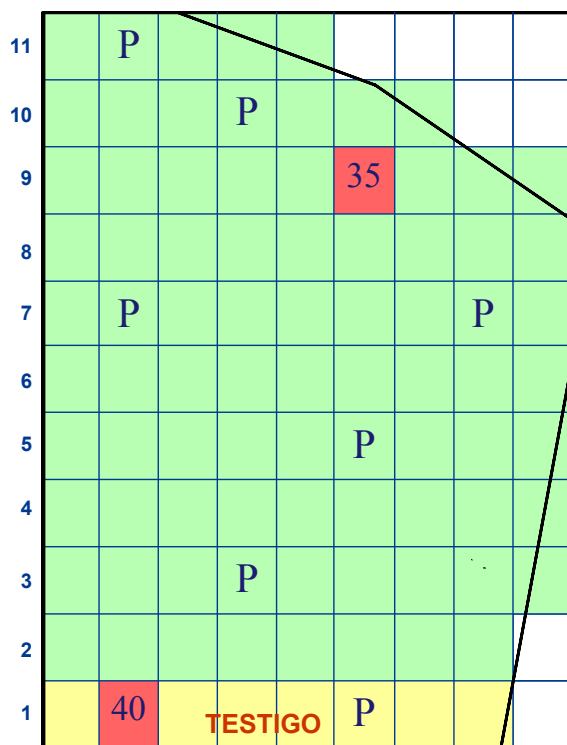


Figura 4.27. Distribución de los perfiles en el viñedo de Jumilla, señalando donde aparece *X. index* entre 120-150 cm (Individuos/kg suelo).

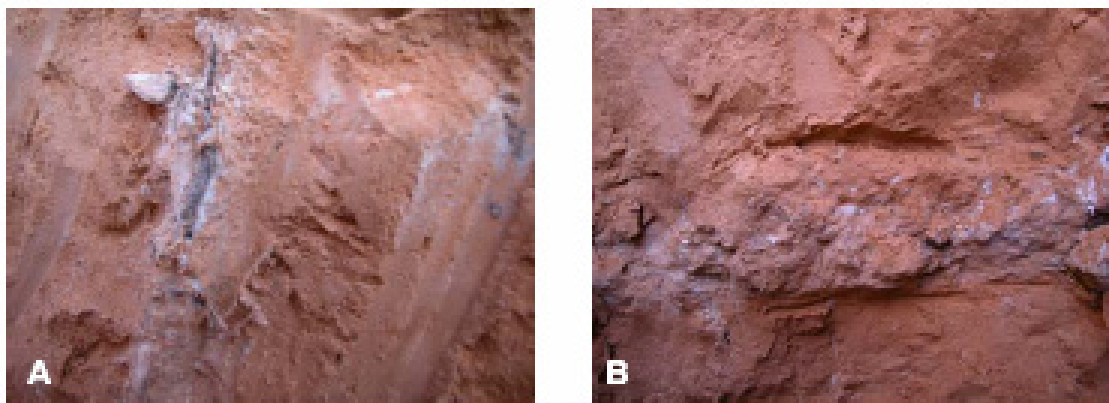


Figura 4.28. Raíces recubiertas por carbonato cálcico (A) y costra caliza (B) que suele aparecer a lo largo del perfil en el viñedo de Jumilla.

Se puede considerar que la biodesinfección de suelos en toda la superficie de la parcela resultó eficaz (Figs 4.26-27), cuando se combinó, con al menos, dos años de barbecho, aunque hay que señalar que la aplicación del estiércol debe hacerse en el momento del arranque del viñedo para evitar que los nematodos se puedan desplazar en profundidad, y al mismo tiempo que el material biodesinfectante se debe distribuir de modo uniforme

para evitar que queden focos de nematodos, no siendo necesaria la utilización de plástico. Para el caso de las raíces que aparecen en profundidad es necesario establecer una duración mínima del barbecho, que no debe ser inferior a dos años. En la mayoría de los casos los adultos de *X. index* encontrados después de dos días de su extracción suelen estar muertos o parasitados por hongos, fenómeno que puede ocurrir por anaerobiosis cuando se acumula la humedad en los horizontes profundos del perfil.

4.3.1.4. Efecto de la biodesinfección de suelos sobre *Macroposthonia xenoplax*. De las muestras que se recogieron el 5-11-04, se extrajeron por centrifugación el 20-12-04 (mes y medio después) a partir de 200 cm³ de suelo, 20 muestras que se habían recogido entre 0-20 cm y otras 20 muestras de > 30 cm, resultando todas negativas a *M. xenoplax*, a pesar de que se había encontrado en la parcela un máximo de 12 individuos/200 cm³ suelo (BELLO *et al.* 2004a).

4.3.1.5. Frutales asociados a la vid y la replantación. Los viñedos se encuentran con frecuencia asociados con frutales, principalmente olivos, almendros e higueras, por lo que fue necesario estudiar su posible influencia en la replantación, debido a que pueden mantener focos de *X. index*. Por ello, el 20-11-02 se tomaron muestras de nueve olivos y un almendro que estaba en la primera parcela en la que se realizó la biodesinfección en bandas, así como tres muestras de suelo sin cultivar, para determinar si existía riesgo de recolonización de la parcela después de la biodesinfección de suelos. No se encontró *X. index* en ninguna de las nueve muestras de olivo, por lo que no se considera que pueda influir la asociación entre la vid y el olivo en la recolonización de la parcela por el nematodo. Tampoco aparecieron en las muestra de almendro, ni en las tres muestras de suelo sin cultivar, pero debe tenerse en cuenta que en este caso el número de muestras fue muy bajo.

Por ello, se realizó a una nueva toma de 12 muestras de suelo con raíces de los almendros que estaban dispersos por la parcela biodesinfectada (15-3-2003). En las muestras de almendro, lo mismo que había ocurrido en los olivos no apareció *X. index*, por lo que **se considera que no existen riesgos de reinfestación al resto de la parcela cuando se asocian almendros y olivos con la vid.**

Por otro lado se recogieron muestras de una higuera que estaba asociada al segundo viñedo biodesinfectado (27-4-2004) y se encontraron 21 individuos/200 cm³ suelo. En este caso de la higuera se **sabe que *X. index* pierde su poder transmisor del virus del GFLV después de alimentarse de las raíces de la higuera. No obstante esta circunstancia representaría un riesgo potencial cuando se introducen portainjertos portadores del virus.**

4.3.2. Manejo de nematodos en viñedos establecidos mediante el uso de vinazas de vino y remolacha en la provincia de Ciudad Real

En este apartado se estudió la influencia sobre las poblaciones de nematodos cuando se incorporan vinazas de remolacha y de vino en viñedos que están establecidos. El objetivo fue estudiar la posibilidad de reducción de las poblaciones del nematodo transmisor de virus *X. index* para disminuir la propagación de la infección en el campo, puesto que la eliminación del virus una vez que ha infectado a las plantas es posiblemente imposible. Para este estudio se trabajó en tres viñedos situados en la provincia de Ciudad Real en los que se detectó la presencia de *X. index* y del “virus del entrenudo corto” o GFLV, a los cuales se aplicaron distintas dosis de vinazas de vino y remolacha, realizando un estudio más amplio de las primeras debido a la existencia en la zona de fábricas productoras de alcohol con el fin de utilizar recursos locales y reducir costes en la producción.

4.3.2.1. Manejo de nematodos asociados al viñedo mediante el uso de vinazas de vino y remolacha en Socuéllamos (Ciudad Real). Se trabajó en un viñedo con ocho años de antigüedad de la variedad “Cencibel” cultivado en vaso con un marco de plantación de 2,5 × 2,5 m. Al viñedo se le aplican riegos de apoyo durante el verano mediante aspersion. En esta finca se observó no sólo presencia del virus GFLV y del nematodo transmisor de virus *X. index*, sino también una importante presencia de juveniles de segundo estadio (J_2) del nematodo formador de nódulos *M. arenaria*. El diseño experimental fue en bloques al azar con tres tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento. Los tratamientos fueron un testigo y dos tipos de vinazas, una de vino a la dosis de 4 l/m² y otra de remolacha a la dosis de 2 l/m². Cada parcela elemental ocupaba de 225 m² de superficie.

Campaña 2006/2007. Durante el mes de febrero de 2007 se realizó la toma de muestras de suelo para comprobar la presencia y distribución del nematodo transmisor de virus *X. index* una vez que se había realizado el diseño experimental. Además en estos análisis se detectó una abundante presencia de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, en especial de *M. arenaria*. Este fenómeno, aunque con poblaciones más pequeñas, se observó también en otros viñedos que se había muestreado en la zona de Ciudad Real. En el viñedo de Socuéllamos, una vez estudiadas las poblaciones de nematodos mediante los métodos de centrifugación en azúcar (NOMBELA & BELLO 1983) y FLEGG (1967) se observó que iniciamos el ensayo con poblaciones semejantes, con la excepción de *X. index* que no se detectó en las parcelas testigo, siendo sus poblaciones más altas en las parcelas donde se van a aplicar vinazas de remolacha (Tabla 4.61).

Tabla 4.61. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Socuéllamos (Ciudad Real) al comienzo de la experimentación en febrero de 2007 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Vinazas de remolacha 2 l/m ² | Significación asintótica |
|--|-----------------|---------------------------------------|--|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. ⁽¹⁾ | 19,21 ± 43,84 a | 12,46 ± 11,95 a | 17,06 ± 24,80 a | 0,689 |
| <i>Xiphinema index</i> ⁽¹⁾ | 0,0 ± 0,0 a | 3,25 ± 6,72 ab | 5,69 ± 20,21 b | 0,013 |
| Doriláimidos ⁽¹⁾ | 12,81 ± 7,39 a | 10,31 ± 7,62 a | 9,50 ± 6,68 a | 0,486 |
| <i>Meloidogyne</i> spp. ⁽²⁾ | 24,76 ± 25,80 a | 89,16 ± 60,10 a | 89,19 ± 56,63 a | 0,155 |
| <i>Paratylenchus</i> spp. ⁽²⁾ | 17,98 ± 34,02 a | 21,44 ± 24,96 a | 14,90 ± 20,95 a | 0,780 |
| <i>Helicotylenchus</i> spp. ⁽²⁾ | 2,98 ± 3,46 a | 12,22 ± 22,66 a | 11,11 ± 22,22 a | 0,846 |
| Rabdítidos ⁽²⁾ | 57,37 ± 16,25 a | 39,96 ± 21,61 a | 37,14 ± 45,69 a | 0,334 |
| <i>Discolaimus</i> spp. ⁽¹⁾ | 3,45 ± 6,90 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,368 |
| Enquitreidos ⁽¹⁾ | 3,69 ± 4,50 a | 2,81 ± 2,17 a | 4,75 ± 8,0 a | 0,920 |
| Índice de nodulación | 2,25 ± 2,87 a | 5,0 ± 2,16 a | 6,0 ± 2,0 a | 0,107 |

⁽¹⁾ Método de FLEGG (1967) ⁽²⁾ Centrifugación en azúcar (NOMBELA & BELLO 1983). ^(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

También se analizaron las poblaciones de otras especies de nematodos del género *Xiphinema*, que no son transmisores del virus GFLV en las plantas de vid. Por otro lado se observó que las poblaciones de juveniles (J₂) de *M. arenaria* son superiores en las parcelas en las que se utilizaron como biodesinfectantes vinazas de remolacha (Tabla 4.61). En este primer muestreo se realizaron las extracciones de nematodos por los dos métodos para conocer mejor la situación de partida, mientras que en análisis posteriores sólo se realizaran los análisis por el método de FLEGG (1967), debido a que es el método más apropiado para el estudio de las poblaciones de *Xiphinema* spp., considerando el Índice de Nodulación de BRIDGE & PAGE (1980) válido para el estudio de las poblaciones de *M. arenaria*.

A principios del mes de marzo, cuando las viñas todavía no han comenzado a brotar, se aplicaron las vinazas de remolacha y de vino en el viñedo a su dosis correspondiente. A mediados del mes de mayo de 2007 se realizó otra toma de muestras de suelo para estudiar la influencia de las vinazas sobre las poblaciones de nematodos. Los análisis realizados después de los tratamientos sólo presentaban distinta significación para las poblaciones de *Paratylenchus* spp., *Helicotylenchus* spp. y para el grupo de los rabdítidos, nematodos asociados a la descomposición de la materia orgánica (Tabla 4.62). Estos análisis se diferenciaron de los anteriores porque se detectó la presencia de *X. index* en las parcelas del tratamiento testigo, aunque fueron pequeñas. Si comparamos estos resultados con los obtenidos tras el muestreo de febrero (Tabla 4.61) se puede observar como disminuyeron las poblaciones de nematodos parásitos de la vid. Principalmente se observó que las poblaciones de *X. index* y *M. arenaria*, principales nematodos parásitos a los que va dirigido el estudio, son menores en los tratamientos con vinazas ya sean de vino o de remolacha.

Tabla 4.62. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Socuéllamos (Ciudad Real), un mes y medio después de haber aplicado las vinazas Mayo de 2007 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Vinazas de remolacha 2 l/m ² | Significación asintótica |
|--|-----------------|---------------------------------------|--|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. ⁽¹⁾ | 26,13 ± 31,84 a | 27,25 ± 25,10 a | 5,88 ± 11,23 b | 0,000 |
| <i>Xiphinema index</i> ⁽¹⁾ | 0,69 ± 1,58 a | 0,06 ± 0,25 a | 2,88 ± 8,82 a | 0,332 |
| Doriláimidos ⁽¹⁾ | 44,56 ± 10,68 a | 49,88 ± 22,08 a | 12,88 ± 28,35 b | 0,000 |
| <i>Meloidogyne</i> spp. ⁽²⁾ | 20,05 ± 46,27 a | 14,92 ± 25,98 a | 20,92 ± 61,21 a | 0,766 |
| <i>Paratylenchus</i> spp. ⁽²⁾ | 3,76 ± 5,30 b | 3,71 ± 3,76 b | 0,0 ± 0,0 a | 0,005 |
| <i>Helicotylenchus</i> spp. ⁽²⁾ | 2,37 ± 5,36 a | 11,21 ± 33,58 a | 0,88 ± 3,51 a | 0,198 |
| Rabdítidos ⁽²⁾ | 28,66 ± 12,42 a | 297,78 ± 134,27 b | 841,68 ± 614,54 c | 0,000 |
| Discolaimus ⁽¹⁾ | 0,21 ± 0,84 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,368 |
| Enquitreidos ⁽¹⁾ | 20,88 ± 23,47 c | 7,13 ± 9,18 b | 2,75 ± 6,92 a | 0,000 |
| Índice de nodulación | 1,31 ± 2,06 a | 2,19 ± 2,37 a | 0,88 ± 1,82 a | 0,180 |

(1) Método de FLEGG (1967) (2) Centrifugación en azúcar (NOMBELA & BELLO 1983). (3) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Por otro lado al estudiar la fauna asociada a la descomposición de la materia orgánica se observó que las poblaciones de rabdítidos y enquitreidos presentan diferencias estadísticamente significativas entre los tres tipos de tratamientos, siendo las poblaciones de rabdítidos mayores en los tratamientos con vinazas de remolacha, seguidos por los de vinazas de vino y en último lugar en el testigo, mientras que para las poblaciones de enquitreidos el comportamiento fue al contrario (Tabla 4.62). Debido a que estamos trabajando con un cultivo establecido, no se realizan de nuevo análisis de las poblaciones de nematodos después de la vendimia, sino que se efectuaron antes de realizar de nuevo los tratamientos de la siguiente campaña (Tabla 4.63).

Campaña 2007/2008. Se continuó con la experimentación, aplicando sobre las mismas parcelas los mismos tratamientos con el fin de poder determinar la influencia a lo largo del tiempo de nuevas aplicaciones de vinazas. Durante el mes de febrero de 2008 se realizó una toma de muestras de suelo para ver la influencia de los tratamientos realizados durante la campaña anterior sobre las poblaciones de nematodos (Tabla 4.63).

En el viñedo de Socuéllamos tras un año de experimentación se observó que las poblaciones de nematodos son estadísticamente semejantes. Sólo se encontró distinta significación para las poblaciones de *Xiphinema* spp. y para las de rabdítidos. Si las comparamos con las obtenidas al comienzo de la Campaña 2006/2007 podemos observar que las poblaciones de nematodos fitoparásitos (*Xiphinema* spp., *Xiphinema index* y *Meloidogyne* spp. mejor representados por el índice de nodulación) disminuyeron (Tabla 4.63).

Tabla 4.63. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Socuéllamos (Ciudad Real) antes de aplicar los tratamientos de la Campaña 2007/2008. Febrero 2008 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Vinazas de remolacha 2 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------------------|-----------------|---------------------------------------|--|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 7,81 ± 16,63 a | 2,69 ± 3,11 ab | 2,25 ± 6,01 b | 0,009 |
| <i>Xiphinema index</i> | 0,0 ± 0,0 a | 0,19 ± 0,40 a | 0,63 ± 1,71 a | 0,234 |
| Doriláimidos | 13,19 ± 9,43 a | 21,50 ± 14,14 a | 13,06 ± 9,42 a | 0,169 |
| <i>Meloidogyne</i> spp. | 1,38 ± 4,54 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,130 |
| Rabdítidos | 15,44 ± 16,31 a | 14,81 ± 17,16 a | 47,81 ± 43,84 b | 0,012 |
| Enquitreidos | 2,88 ± 3,03 a | 5,25 ± 5,04 a | 5,19 ± 5,73 a | 0,262 |
| Índice de nodulación | 2,0 ± 3,10 a | 1,38 ± 2,19 a | 1,13 ± 2,06 a | 0,904 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Sin embargo, el resto de poblaciones (doriláimidos y enquitreidos) fueron similares (Tabla 4.63). Este fenómeno se observó también en el año siguiente de experimentación (Tabla 4.65). Debido a que durante el mes de marzo de 2008, cuando comenzaron a realizarse los tratamientos comenzó a llover por lo que no se pudo realizar el tratamiento. Continuó lloviendo y se aplicaron las vinazas a finales del mes de abril de 2008, época en la que ya se pudo entrar en el viñedo con la maquinaria necesaria para realizar la aplicación. En este caso, cuando se realizaron los tratamientos la viña ya había comenzado a brotar. La siguiente toma de muestras y su posterior análisis se realizó a finales del mes de junio de 2008 (Tabla 4.64).

Tabla 4.64. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Socuéllamos (Ciudad Real) después de aplicar los tratamientos de la Campaña 2007/2008. Junio 2008 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Vinazas de remolacha 2 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------------------|----------------|---------------------------------------|--|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 7,25 ± 8,34 b | 6,13 ± 5,20 ab | 1,19 ± 2,43 a | 0,002 |
| <i>Xiphinema index</i> | 0,63 ± 2,25 a | 0,19 ± 0,75 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,352 |
| Doriláimidos | 19,06 ± 9,79 b | 18,06 ± 10,82 ab | 11,55 ± 13,55 a | 0,017 |
| <i>Meloidogyne</i> spp. | 0,06 ± 0,25 a | 0,06 ± 0,25 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,600 |
| Rabdítidos | 11,25 ± 7,68 a | 9,38 ± 7,75 ab | 235,63 ± 255,23 b | 0,000 |
| Enquitreidos | 0,88 ± 2,03 a | 0,38 ± 0,89 a | 1,0 ± 1,41 a | 0,305 |
| Índice de nodulación | 0,69 ± 1,58 a | 0,31 ± 0,48 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,790 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En el viñedo de Socuéllamos después de aplicar las vinazas en la Campaña 2007/2008, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las poblaciones de *Xiphinema* spp., doriláimidos y rabdítidos (Tabla 4.64). Las poblaciones de *Xiphinema* spp. fueron menores con respecto al testigo, siendo las obtenidas en el tratamiento con vinazas de remolacha las más bajas si bien se observó, que habían disminuido en todos

los tratamientos con respecto al comienzo del ensayo en el mes de febrero del año 2007 (Tabla 4.63). Del mismo modo, aunque no existiesen diferencias estadísticamente significativas, los valores de *X. index* fueron menores en los tratamientos que al comienzo del experimento, sin embargo en los tratamientos con vinazas de vino fueron mayores que antes de realizar los tratamientos.

Campaña 2008/09. Durante esta campaña continuó el estudio de la influencia de las poblaciones de nematodos, por lo que se repitieron de nuevo los tratamientos sobre las mismas parcelas. Antes de realizar los tratamientos se realizó una toma de muestras de suelo en el mes de febrero de 2009 para determinar las condiciones de partida de esta campaña y para observar en el tiempo la influencia de la aplicación de las vinazas de vino y de remolacha sobre las poblaciones de nematodos del suelo (Tabla 4.65).

Tabla 4.65. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Socuéllamos (Ciudad Real) antes de aplicar los tratamientos de la Campaña 2007/2008. Febrero 2009 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Vinazas de remolacha 2 l/m ² | Significación asintótica |
|------------------------|----------------|---------------------------------------|--|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 4,88 ± 5,26 b | 1,75 ± 2,29 ab | 0,63 ± 1,59 a | 0,008 |
| <i>Xiphinema index</i> | 1,0 ± 2,19 a | 0,13 ± 0,50 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,054 |
| Doriláimidos | 21,25 ± 17,0 a | 37,75 ± 15,96 ab | 38,25 ± 26,32 b | 0,003 |
| Rabdítidos | 4,50 ± 2,68 a | 41,13 ± 36,32 b | 88,38 ± 37,52 c | 0,000 |
| Enquitreidos | 2,13 ± 2,47 a | 3,38 ± 2,99 b | 7,0 ± 4,0 c | 0,001 |
| Índice de nodulación | 1,69 ± 2,60 a | 0,56 ± 0,51 a | 0,25 ± 0,45 a | 0,163 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Los análisis realizados al comienzo del estudio de la Campaña 2008/2009 presentaban mayores diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Tabla 4.65) que los que se presentaron al comienzo de la Campaña 2007/2008 (Tabla 4.63). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los nematodos indicadores de suelo como son doriláimidos, rabdítidos y enquitreidos que presentaban mayores valores en el tratamiento con vinazas de remolacha, seguidas por las de vino y por último el testigo. Se debe destacar que las poblaciones de fitoparásitos presentaban niveles similares, pero incluso menores a los obtenidos después de los tratamientos de la campaña 2007/2008, a pesar de que no se observasen diferencias estadísticamente significativas (Tabla 4.65). Así, no se detectó la presencia de *X. index*, principal objetivo del trabajo en los tratamientos con vinazas de remolacha, siendo las poblaciones en las vinazas de vino muy bajas, detectándose sólo en una parcela y en una vid. Con respecto a *M. arenaria*, se observó que los índices de nodulación, a

pesar de ser muy bajos, aumentaron con respecto al análisis realizado después de haber realizado los tratamientos de la Campaña 2007/2008 (Tabla 4.64), pero fueron menores que los obtenidos al comienzo de dicha campaña antes de haber realizado los tratamientos. No debemos de olvidar que *M. arenaria* es un nematodo endoparásito, lo cual dificulta su eliminación, sobre todo cuando estamos trabajando además con un cultivo que ya está establecido. Como conclusión de los análisis realizados los dos años siguientes a haber aplicado las vinazas, **se observó una reducción en las poblaciones de los nematodos fitoparásitos *X. index* y *M. arenaria*, no afectando a las poblaciones de otros nematodos y oligoquetos del suelo que presentan valores similares o superiores.**

Posteriormente, como en años anteriores, se realizó una nueva aplicación de vinazas a mediados del mes de marzo de 2009 en las mismas parcelas y con las mismas dosis. Una vez aplicadas las vinazas y transcurrido un tiempo, a principios del mes de junio de 2009 se realizó una nueva toma de muestras del suelo (Tabla 4.66).

Tabla 4.66. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Socuéllamos (Ciudad Real) después de aplicar los tratamientos de la Campaña 2008/2009. Junio 2009 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Vinazas de remolacha 2 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------------------|----------------|---------------------------------------|--|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 1,88 ± 2,03 a | 2,06 ± 2,08 a | 1,25 ± 2,32 a | 0,130 |
| <i>Xiphinema index</i> | 0,06 ± 0,25 a | 0,06 ± 0,25 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,600 |
| Doriláimidos | 15,38 ± 6,10 a | 16,19 ± 10,56 a | 22,88 ± 9,25 a | 0,060 |
| Rabdítidos | 0,94 ± 1,12 a | 2,19 ± 2,40 b | 5,88 ± 7,86 c | 0,000 |
| Enquitreidos | 3,56 ± 4,05 a | 2,56 ± 1,93 a | 2,69 ± 2,73 a | 0,952 |
| Índice de nodulación | 0,06 ± 0,25 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,368 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Tras los análisis realizados después de los tratamientos de la Campaña 2008/2009 (Tabla 4.66), sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en los valores de las poblaciones de rabdítidos, presentando los valores más altos el tratamiento con vinazas de remolacha, seguido por las de vino y el testigo. Para el resto de poblaciones, aunque no se encontrasen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, **se observó un descenso en las poblaciones de nematodos fitoparásitos.** Por otro lado las poblaciones del testigo también fueron menores que las encontradas en años anteriores (Tablas 4.61, 64 & 67).

Tras tres años de aplicación de vinazas de vino y de remolacha se observó un claro descenso de las poblaciones de *X. index* y *M. arenaria*. En el tratamiento con vinazas de remolacha no se detectó la presencia de *X. index* después de que se realizase la segunda aplicación, mientras que para las vinazas de vino, a pesar que las poblaciones disminuyeron después de su segunda aplicación, no se logró eliminar *X. index* totalmente durante los tres años de ensayo (Tablas 4.60, 64 & 66). **Por otro lado las poblaciones de *M. arenaria* disminuyeron de forma considerable desde el primer tratamiento realizado, ya fuera con vinazas de vino o con vinazas de remolacha.** Sólo se detectó su presencia en el último análisis de suelo realizado después de los tratamientos de la Campaña 2008/2009, en el cual se observó también que se produjo un descenso en el índice de nodulación medio del testigo. En este caso como se comentó anteriormente, no debemos olvidarnos que se trata de un nematodo endoparásito.

Por otro lado, aunque no se muestren los resultados, se observó que a pesar de reducir las poblaciones del nematodo transmisor de virus, no se redujo la cantidad de plantas infectadas por el virus del GFLV.

4.3.2.2. Manejo de nematodos asociados al viñedo mediante el uso de vinazas de vino en Membrilla (Ciudad Real). En el termino municipal de Membrilla (Ciudad Real) se trabajó en un viñedo de seis años de edad de la variedad “Airén”, cultivada en vaso con un marco de plantación de 2,5 × 2,5 m. En este viñedo se realizan riegos de apoyo al cultivo durante el verano mediante aspersión. El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones y tres tratamientos, incluyendo el testigo. Los tratamientos constaron de la aplicación de vinazas de vino a las dosis de 1 y 2 l/m². En este viñedo se detectó la presencia del virus GFLV, *X. index* y *M. arenaria*.

Campaña 2006/2007. Durante el mes de febrero de 2007 se realizó la toma de muestras de suelo para certificar la presencia y conocer la distribución de *X. index* y *M. arenaria* en la zona del viñedo en la que se iba a realizar el estudio, una vez que se había realizado el diseño experimental (Tabla 4.67).

Tras los análisis de suelos realizados para el viñedo de Membrilla podemos señalar la presencia de *X. index* y *M. arenaria*. Se pudo observar que la situación de partida fue estadísticamente semejante (Tabla 4.67) por lo que se pudo comparar en igualdad de condiciones. A mediados del mes de marzo de 2007 se realizó la aplicación de las vinazas de

vino a las dosis de 1 y 2 l/m² en las parcelas correspondientes a cada tratamiento. A mediados del mes de mayo de 2007 se realizó de nuevo una toma de muestras de suelo para estudiar la influencia de la aplicación de vinazas de vino sobre las poblaciones de nematodos del suelo (Tabla 4.68).

Tabla 4.67. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Membrilla (Ciudad Real) al comienzo de la experimentación en la Campaña 2006/2007. Febrero 2007 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 1 l/m ² | Vinazas de vino 2 l/m ² | Significación asintótica |
|------------------------|------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 49,06 ± 106,87 a | 18,75 ± 24,98 a | 35,0 ± 70,05 a | 0,576 |
| <i>Xiphinema index</i> | 1,06 ± 1,61 a | 0,31 ± 0,70 a | 2,94 ± 8,87 a | 0,037 |
| Doriláimidos | 20,19 ± 15,30 a | 14,50 ± 7,82 a | 16,0 ± 13,08 a | 0,199 |
| Enquitreidos | 1,25 ± 1,77 a | 1,75 ± 1,98 a | 1,88 ± 1,75 a | 0,706 |
| Índice de nodulación | 1,75 ± 1,78 a | 1,63 ± 1,72 a | 1,44 ± 1,54 a | 0,878 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Tabla 4.68. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Membrilla (Ciudad Real) después de aplicar los tratamientos de la Campaña 2006/2007. Mayo 2007 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 1 l/m ² | Vinazas de vino 2 l/m ² | Significación asintótica |
|---------------------------|-----------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 56,38 ± 24,38 a | 44,50 ± 21,38 a | 41,50 ± 18,81 a | 0,281 |
| <i>Xiphinema index</i> | 2,50 ± 2,71 b | 0,38 ± 0,48 a | 1,0 ± 0,58 ab | 0,019 |
| Doriláimidos | 36,75 ± 9,73 b | 18,50 ± 8,84 a | 22,50 ± 5,79 a | 0,003 |
| <i>Meloidogyne</i> spp. | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,05 ± 0,09 a | 0,368 |
| <i>Paratylenchus</i> spp. | 43,96 ± 22,89 a | 45,88 ± 17,41 a | 44,51 ± 13,01 a | 0,975 |
| Rabdítidos | 1,36 ± 0,29 a | 7,15 ± 0,97 b | 7,16 ± 2,45 b | 0,000 |
| Enquitreidos | 1,50 ± 1,29 a | 1,0 ± 0,82 a | 1,50 ± 1,08 a | 0,850 |
| Índice de nodulación | 1,75 ± 1,14 a | 1,56 ± 0,83 a | 1,44 ± 0,43 a | 0,902 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En el viñedo de Membrilla después de realizar los análisis de las muestras de suelo recogidas al mes y medio de realizar los tratamientos se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las poblaciones de *X. index*, doriláimidos y rabdítidos (Tabla 4.68). En los tratamientos con vinazas de vino independientemente de la dosis utilizada, **las poblaciones de *X. index* y doriláimidos disminuyeron, mientras que las poblaciones de rabdítidos se incrementaron.** Para estas dosis utilizadas, menores que las utilizadas en el estudio realizado en el viñedo de Socuéllamos, no se encontró una disminución en las poblaciones de *M. arenaria*, observándose que los índices de nodulación obtenidos son similares a los que se registraron antes de aplicar las vinazas (Tabla 4.67).

Campaña 2007/2008. Durante esta campaña se continuó con el estudio de la influencia de las vinazas de vino a dos dosis distintas sobre las poblaciones de nematodos y oligoquetos. Para ello se reiteraron los tratamientos sobre las mismas parcelas. Durante el mes de febrero de 2008 se realizó una toma de muestras en el experimento para estudiar la situación de partida y para observar cuál es la influencia de los tratamientos de la campaña pasada (Tabla 4.69).

Tabla 4.69. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Membrilla (Ciudad Real) antes de aplicar los tratamientos en la Campaña 2007/2008. Febrero 2008 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 1 l/m ² | Vinazas de vino 2 l/m ² | Significación asintótica |
|------------------------|-----------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 30,04 ± 6,01 a | 49,25 ± 9,85 a | 28,94 ± 5,79 a | 0,009 |
| <i>Xiphinema index</i> | 0,31 ± 0,06 a | 1,63 ± 0,33 a | 1,06 ± 0,21 a | 0,139 |
| Doriláimidos | 72,26 ± 14,45 a | 15,13 ± 3,03 a | 18,69 ± 3,74 a | 0,312 |
| Rabditidos | 14,38 ± 2,88 b | 3,44 ± 0,69 a | 4,63 ± 0,93 a | 0,001 |
| Enquitreidos | 2,13 ± 0,43 a | 2,50 ± 0,50 a | 2,31 ± 0,46 a | 0,781 |
| Índice de nodulación | 0,50 ± 0,71 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,19 ± 0,48 a | 0,103 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Al comienzo de la Campaña 2007/2008 se observó que sólo aparecían diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los valores de las poblaciones de rabditidos (Tabla 4.69), que fueron menores con respecto al testigo y al análisis realizado después de aplicar el tratamiento de la campaña anterior (Tabla 4.70).

Posteriormente se realizó la aplicación de las vinazas de vino y pasado un tiempo a finales de mayo se realizó una toma de muestras de suelo para analizar la influencia de la utilización de las vinazas de vino sobre las poblaciones de nematodos (Tabla 4.70).

Tabla 4.70. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Membrilla (Ciudad Real) después de aplicar los tratamientos de la Campaña 2007/2008. Junio 2008 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 1 l/m ² | Vinazas de vino 2 l/m ² | Significación asintótica |
|------------------------|----------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 19,50 ± 8,17 b | 8,06 ± 3,09 ab | 6,69 ± 1,69 a | 0,009 |
| <i>Xiphinema index</i> | 0,0 ± 0,0 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,81 ± 2,59 a | 0,044 |
| Doriláimidos | 75,19 ± 3,88 b | 19,81 ± 4,87 ab | 29,38 ± 2,76 a | 0,007 |
| Rabditidos | 3,56 ± 4,66 a | 4,94 ± 4,88 a | 7,94 ± 2,50 a | 0,049 |
| Enquitreidos | 0,31 ± 0,47 a | 0,81 ± 0,62 a | 1,38 ± 0,47 a | 0,049 |
| Índice de nodulación | 0,38 ± 0,74 a | 0,75 ± 0,58 a | 0,31 ± 0,55 a | 0,148 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

A finales de mayo de 2008, y tras el análisis de las muestras de suelo realizados después los tratamientos, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los valores de las poblaciones de *Xiphinema* spp. y doriláimidos, que en este viñedo las vinazas de vino presentaron efecto negativo, puesto que las poblaciones disminuyeron (Tabla 4.70). Para el resto de parámetros estudiados no se observó una influencia clara de la aplicación de las vinazas de vino, puesto que los valores entre los distintos tratamientos fueron muy similares. En este viñedo no se pudo seguir durante la Campaña 2008/2009 la experimentación, puesto que el viñedo se arrancó para realizar una nueva replantación.

Como conclusión del estudio de la influencia de las vinazas de vino sobre las poblaciones de nematodos en el viñedo de Membrilla no fueron muy patentes, salvo tras el primer tratamiento donde sí que se observó una reducción importante de *X. index*.

4.3.2.3. Manejo de nematodos asociados al viñedo mediante el uso de vinazas de vino en Tomelloso (Ciudad Real). En el término municipal de Tomelloso se trabajó en un viñedo con más de 40 años de edad de la variedad “Airén”, en vaso con un marco de plantación de $2,7 \times 2,7$ m. En este caso se trata de un secano donde no se aplican riegos de apoyo. Existen dos tratamientos, uno donde se aplicaron vinazas de vino a la dosis de 4 l/m^2 y un testigo, con cuatro repeticiones cada uno. En el viñedo se detectó la presencia del virus del GFLV, su nematodo transmisor *X. index* y pequeñas poblaciones del nematodo formador de nódulos *M. arenaria*.

Campaña 2006/2007. Durante el mes de febrero de 2007 se realizó la toma de muestras de suelo para analizar las poblaciones de nematodos y de enquitreidos del viñedo una vez que estaba planteado el diseño experimental (Tabla 4.71)

Tabla 4.71. Poblaciones de nematodos y de enquitreidos en el viñedo de Tomelloso (Ciudad Real) al comienzo de la experimentación en la Campaña 2006/2007. Febrero 2007 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m^2 | Significación asintótica |
|------------------------|---------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | $38,13 \pm 40,10$ a | $31,56 \pm 37,85$ a | 0,806 |
| <i>Xiphinema index</i> | $2,56 \pm 4,26$ a | $9,75 \pm 17,13$ a | 0,473 |
| Doriláimidos | $9,69 \pm 7,47$ a | $5,50 \pm 4,12$ a | 0,061 |
| Enquitreidos | $1,0 \pm 1,15$ a | $0,69 \pm 0,87$ a | 0,541 |
| Criconemoides | $0,19 \pm 0,75$ a | $1,0 \pm 2,76$ a | 0,502 |
| Índice de nodulación | $1,75 \pm 2,06$ a | $0,25 \pm 0,50$ a | 0,739 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Las poblaciones de nematodos del viñedo de Tomelloso fueron estadísticamente semejantes antes de realizar los tratamientos (Tabla 4.71). Posteriormente a mediados del mes de marzo de 2007 se aplicaron las vinazas de vino a la dosis de 4 l/m² en las parcelas correspondientes, antes de que las plantas hubiesen comenzado la brotación. A finales del mes de mayo, tras el transcurso de un pequeño periodo de tiempo desde el tratamiento se realizó una toma de muestras para analizar la influencia de las vinazas de vino sobre las poblaciones de nematodos y enquitreidos del suelo (Tabla 4.72).

Tabla 4.72. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de los análisis de suelo realizados en el viñedo de Tomelloso (Ciudad Real) después de aplicar los tratamientos de la Campaña 2006/2007. Mayo 2007 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------------------|-----------------|------------------------------------|--------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 35,63 ± 26,83 a | 33,38 ± 33,10 a | 0,375 |
| <i>Xiphinema index</i> | 4,13 ± 4,65 a | 1,63 ± 3,12 b | 0,041 |
| Doriláimidos | 13,63 ± 7,80 a | 13,38 ± 11,14 a | 0,375 |
| <i>Meloidogyne</i> spp. | 8,85 ± 14,60 b | 0,0 ± 0,0 a | 0,010 |
| <i>Paratylenchus</i> spp. | 2,19 ± 3,07 a | 15,31 ± 33,46 a | 0,625 |
| <i>Helicotylenchus</i> spp. | 1,89 ± 2,73 b | 0,0 ± 0,0 a | 0,004 |
| Rabdítidos | 42,56 ± 25,64 a | 79,84 ± 45,89 b | 0,007 |
| Enquitreidos | 3,0 ± 2,07 a | 7,75 ± 4,67 b | 0,002 |
| <i>Criconemoides</i> | 0,43 ± 1,74 a | 0,42 ± 1,14 a | 0,602 |
| Índice de nodulación | 0,44 ± 1,75 a | 0,06 ± 0,25 a | 0,964 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Tras el análisis de suelo posterior al tratamiento observamos que aparecieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las poblaciones de *X. index*, de rabdítidos y enquitreidos. **Las poblaciones de *X. index* descendieron después del tratamiento en aquellas parcelas en las que se habían aplicado vinazas de vino, mientras que las poblaciones de rabdítidos y enquitreidos, relacionados con la descomposición de la materia orgánica, aumentaron.**

Campaña 2007/2008. Se continuó con el estudio de la influencia sobre las poblaciones de nematodos tras aplicar vinazas de vino a la dosis de 4 l/m² sobre las mismas parcelas.

Durante el mes de febrero de 2008 se realizó un análisis de las muestras de suelo recogidas en cada punto de muestreo del viñedo, para conocer cuáles fueron las condiciones de partida del nuevo año de estudio y para conocer la influencia de la aplicación de las vinazas de vino del año anterior sobre las poblaciones de nematodos y enquitreidos del suelo (Tabla 4.73).

Tabla 4.73. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Tomelloso (Ciudad Real) antes de aplicar los tratamientos en la Campaña 2007/2008. Febrero 2008 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Significación asintótica |
|-------------------------|-----------------|------------------------------------|--------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 17,50 ± 16,08 a | 15,56 ± 13,57 a | 0,925 |
| <i>Xiphinema index</i> | 2,74 ± 3,42 a | 1,69 ± 3,44 a | 0,204 |
| Doriláimidos | 12,56 ± 8,48 a | 10,75 ± 9,02 a | 0,345 |
| <i>Meloidogyne</i> spp. | 1,06 ± 4,25 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,317 |
| Rabdítidos | 14,69 ± 6,60 b | 7,88 ± 7,70 a | 0,004 |
| Enquitreidos | 1,56 ± 2,19 a | 1,25 ± 0,93 a | 0,505 |
| Criconemoides | 0,13 ± 0,50 a | 0,38 ± 0,89 a | 0,294 |
| Índice de nodulación | 0,56 ± 2,0 a | 0,94 ± 2,24 a | 0,612 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

La influencia de la utilización de vinazas de vino aplicadas el año anterior sólo presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las poblaciones de rabdítidos, que disminuyeron en las parcelas tratadas (Tabla 4.73). Este mismo fenómeno se observó en el viñedo de Membrilla, donde después de un año de tratamiento al comienzo del segundo, las poblaciones de rabdítidos presentaban diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, disminuyendo su tamaño en los tratamientos con vinazas de vino (Tabla 4.68). Se observó que las poblaciones de *X. index* no habían aumentado, siendo menores que al comienzo de la experimentación (Tabla 4.71). Posteriormente a mediados del mes de marzo de 2008 se aplicaron las vinazas de vino en las parcelas correspondientes a la misma dosis que el año anterior. A finales del mes de mayo de 2008 se realizó una toma de muestras de suelo para ver la influencia de dicha aplicación (Tabla 4.74).

Tabla 4.74. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Tomelloso (Ciudad Real) después de aplicar los tratamientos de la Campaña 2007/2008. Junio 2008 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------------------|-----------------|------------------------------------|--------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 14,44 ± 13,89 a | 12,56 ± 13,15 a | 0,610 |
| <i>Xiphinema index</i> | 0,06 ± 0,25 a | 0,69 ± 2,24 a | 0,279 |
| Doriláimidos | 12,25 ± 7,55 a | 11,94 ± 4,14 a | 0,558 |
| <i>Pratylenchus</i> spp. | 0,19 ± 0,75 a | 0,31 ± 1,01 a | 0,551 |
| <i>Helicotylenchus</i> spp. | 1,19 ± 2,20 a | 0,88 ± 2,31 a | 0,462 |
| Rabdítidos | 4,63 ± 4,16 a | 4,69 ± 9,41 a | 0,254 |
| Enquitreidos | 0,31 ± 0,60 a | 0,19 ± 0,40 a | 0,619 |
| Criconemoides | 0,13 ± 0,34 a | 0,19 ± 0,75 a | 0,602 |
| Índice de nodulación | 0,13 ± 0,50 a | 0,0 ± 0,0 a | 0,317 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Los resultados obtenidos tras el análisis de las muestras de suelo después de realizar los tratamientos se recogen en la Tabla 4.74. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las poblaciones de nematodos del suelo.

Campaña 2008/2009. Durante esta campaña se siguen aplicando vinazas de vino para estudiar el efecto de su reiteración sobre las poblaciones de nematodos. Como en años anteriores y en el resto de localidades, en febrero se realizó una toma de muestras de suelo para posteriormente realizar análisis de las poblaciones de nematodos del suelo con el fin de conocer cuál es la situación de partida de la nueva campaña y para estudiar el efecto de la aplicación de vinazas de vino durante los dos años anteriores (Tabla 4.75).

Tabla 4.75. Poblaciones de nematodos y enquitreidos en el viñedo de Tomelloso (Ciudad Real) antes de aplicar los tratamientos en la Campaña 2008/2009. Febrero 2009 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------------------|-----------------|------------------------------------|--------------------------|
| <i>Xiphinema</i> spp. | 12,75 ± 11,43 b | 3,56 ± 2,66 a | 0,006 |
| <i>Xiphinema index</i> | 0,63 ± 1,26 a | 1,50 ± 3,31 a | 0,804 |
| Doriláimidos | 16,31 ± 14,23 a | 34,88 ± 17,05 b | 0,003 |
| <i>Helicotylenchus</i> spp. | 3,39 ± 3,89 a | 1,28 ± 2,78 a | 0,099 |
| Rabdítidos | 8,63 ± 8,97 a | 19,09 ± 11,51 b | 0,002 |
| Enquitreidos | 1,13 ± 1,63 a | 3,88 ± 2,36 b | 0,001 |
| Criconemoides | 0,50 ± 1,15 a | 0,25 ± 0,68 a | 0,591 |
| Índice de nodulación | 0,44 ± 1,75 a | 0,06 ± 0,25 a | 0,964 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Los resultados obtenidos tras el análisis del suelo nos muestran que existen diferencias estadísticamente significativas sobre todo para las poblaciones de nematodos no fitoparásitos (Tabla 4.75). Así se observó que **las poblaciones de doriláimidos, rabdítidos y enquitreidos del grupo de los oligoquetos fueron mayores en las parcelas en las que se habían aplicado vinazas de vino.** Para las poblaciones de nematodos fitoparásitos se observó que **las poblaciones de *Xiphinema* spp. disminuyeron en el tratamiento con vinazas de vino.** De nuevo, se volvió a comprobar que las poblaciones de *X. index* y de *Meloidogyne* spp. no se incrementaron.

A mediados del mes de marzo se realizó de nuevo la aplicación de vinazas de vino sobre las mismas parcelas y a la misma dosis. A finales del mes de mayo se realizó una nueva toma de muestras de suelo para estudiar la influencia de las aplicaciones sobre las poblaciones de nematodos y enquitreidos (Tabla 4.76).

Tras tres años de aplicación de las vinazas de vino en el viñedo de Tomelloso, se observó que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Tabla 4.76). Por otro lado debemos de destacar que las poblaciones de nematodos fitoparásitos fueron más bajas que al comienzo de la experimentación (Tabla 4.71).

Tabla 4.76. Poblaciones de nematodos y enquitreidos de los análisis de suelo realizados en el viñedo de Tomelloso (Ciudad Real) después de aplicar los tratamientos de la Campaña 2008/2009. Junio 2009 (Individuos/200 cm³ de suelo).^(*)

| Nematodos | Testigo | Vinazas de vino 4 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------------------|----------------|------------------------------------|--------------------------|
| <i>Xiphinema spp.</i> | 3,50 ± 5,07 a | 3,81 ± 9,29 | 0,712 |
| <i>Xiphinema index</i> | 0,50 ± 1,75 a | 1,69 ± 5,0 a | 0,361 |
| Doriláimidos | 11,31 ± 5,50 a | 12,50 ± 5,23 a | 0,705 |
| Rabdítidos | 1,10 ± 2,61 a | 1,56 ± 1,90 a | 0,113 |
| Enquitreidos | 0,94 ± 1,39 a | 0,31 ± 0,48 a | 0,255 |
| Índice de nodulación | 0,25 ± 1,0 a | 0,13 ± 0,34 a | 0,602 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Como conclusión de este estudio de tres años en el viñedo de Tomelloso, **se puede decir que la aplicación de vinazas de vino contribuyó a reducir las poblaciones de nematodos fitoparásitos**, sobre todo en el primer año, disminuyendo su acción y eficacia en años posteriores, donde cada vez es más difícil que se produzcan descensos en las poblaciones, puesto estas cada vez son más pequeñas.

La aplicación de vinazas de remolacha y de vino en viñedos establecidos durante tres campañas ayudó a reducir las poblaciones de nematodos fitoparásitos como *X. index* y las del nematodo formador de nódulos *M. arenaria*. **Los efectos de las vinazas de vino en los tres estudios se hacen patentes sobre todo durante el primer año de aplicación, siendo su efecto menor en años posteriores. Sin embargo, el efecto de las vinazas de remolacha a lo largo del tiempo fue más eficaz a la hora de reducir las poblaciones de nematodos fitoparásitos. Se debe señalar además, que después de tres años de estudio, la aplicación de vinazas, ya sean de remolacha o de vino, no redujeron la biodiversidad de los suelos, como se pudo observar después de analizar los grupos tróficos de nematodos que no son fitoparásitos, como doriláimidos, rabdítidos y también en los oligoquetos.**

4.4. INFLUENCIA DE LA BIODESINFECCIÓN EN LAS PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO

La biodesinfección de suelos es una alternativa para el control de patógenos de origen edáfico basada en la utilización de materia orgánica, que además de poseer la capacidad de ser supresora de las enfermedades incorpora al suelo nutrientes necesarios para el desarrollo de las plantas. Después de cada tratamiento el suelo fue analizado para determinar su influencia sobre determinados parámetros químicos y así poder determinar su función como fertilizante según el plan de trabajo propuesto. El estudio de su influencia sobre la fertilidad del suelo se debe abordar desde un punto de vista de agricultura sostenible, que sea respetuosa con el medioambiente, teniendo en cuenta además la posible reducción de costes.

4.4.1. Composición química de las vinazas procedentes de la industria alcoholera

Las vinazas de remolacha son un subproducto líquido obtenido en la industria del alcohol generado a partir de fermentación alcohólica de las melazas. Además se venden como fertilizante NK que también aporta otros microelementos nutritivos como puede observarse en la Tabla 4.77. Se trata de un líquido de reacción ácida con unos valores de pH entre 5-6 unidades y en algunos casos su contenido en Nitrógeno total (N_{total}) supera el 2%, del cual la mayor parte es orgánico. En menor cantidad hay $N-NO_3^-$. Así mismo es de destacar la riqueza potásica, así como de otros macro y microelementos como el magnesio (Mg^{2+}), sodio (Na^+), azufre (S), cobre (Cu), hierro (Fe), cinc (Zn), boro (B), etc. Su contenido en metales pesados es muy bajo entre ellos cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), etc., así como la ausencia de microorganismos que puedan ser nocivos para la salud humana (MARTÍNEZ 2007). Por ello su empleo como fertilizante, no entraña riesgos desde el punto de vista sanitario y medioambiental por elementos pesados (URBANO 2002). Debido a su alto contenido en electrolitos y compuestos gelatinosos, ejerce una acción aglomerante sobre las partículas dispersas, formando agregados, lo cual **facilita la recuperación de la estructura, porosidad, penetrabilidad y capacidad de retención de agua de los suelos**. Además, presenta un importante contenido de ácidos y otros compuestos orgánicos como aminoácidos, aumentando la capacidad de intercambio catiónico, corrigiendo y evitando la acumulación de sales, logrando una mayor eficiencia en la asimilación de nutrientes (BRAVO & GIRALDO 2003). **Las vinazas de remolacha en la actualidad se están comercializando como un fertilizante NK orgánico de origen vegetal, que también aporta micronutrientes.**

Las vinazas de vino son el principal residuo de la industria alcoholera dedicada principalmente a la destilación de vino de baja calidad para la obtención de alcohol vínico

como producto principal. Se trata de un producto con elevado porcentaje de agua, y un alto contenido en nutrientes, materia orgánica y sales solubles (Tabla 4.78).

Tabla 4. 77. Composición química de las vinazas de remolacha utilizada.

| | Parámetro | Materia seca | Materia fresca |
|-------|-----------------|--------------|----------------|
| g/kg | Humedad | 470 | — |
| | Materia seca | 630 | — |
| | Cenizas | 179 | — |
| | Proteína bruta | 152 | 95,76 |
| | Nitrógeno total | 24 | 15,2 |
| | Fósforo total | 0,026 | 0,016 |
| | Potasio | 36,5 | 22,99 |
| | Calcio | 1,6 | 1,01 |
| | Magnesio | 9,4 | 5,92 |
| | Sodio | 25,2 | 15,88 |
| | mg/kg | Hierro | 84 |
| Cobre | | 9 | 5,67 |

Tabla 4.78. Composición química de las vinazas de vino utilizadas.

| | Parámetro | Materia fresca | |
|------------|---|----------------|------|
| | pH | 3,61 | |
| | CE dS/m | 2,87 | |
| g/l | N_{total} g/l | 0,12 | |
| | Fósforo (P₂O₅) | 0,21 | |
| | Potasio | 0,73 | |
| | Calcio | 0,04 | |
| | Magnesio | 0,08 | |
| | Sodio | 0,06 | |
| | Cloro | 0,10 | |
| | Sal | 1,50 | |
| | mg/l | Plomo | 0,88 |
| | | Cinc | 0,35 |

4.4.2. Influencia de la biodesinfección con vinazas de remolacha y de vino en muestras de suelos en condiciones controladas de laboratorio

De las muestras de suelo preparadas con 500 g que se utilizaron para realizar los ensayos de biodesinfección en condiciones controladas de laboratorio, 100 cm³ se utilizaron para la evaluación de la eficacia en el control de los productos utilizados sobre los nematodos y oligoquetos del suelo, 250 g se utilizaron para evaluar la eficacia de la biodesinfección sobre plantas de tomate cv “Marmande” y el resto de suelo del ensayo se utilizó para estudiar la influencia en la fertilidad de los suelos, mediante análisis químico, tal como se indica en el

Apartado 3.5.2 del capítulo de Material y Métodos, con cuatro repeticiones por tratamiento Las dosis de vinazas utilizadas en estos ensayos y sus equivalencias a dosis de campo fueron las siguientes:

- 1 ml = 5.000 l/ha
- 2 ml = 10.000 l/ha
- 3 ml = 15.000 l/ha
- 5 ml = 25.000 l/ha

Debido a que se trabajó con los mismos suelos para el estudio de las vinazas de vino y de remolacha, en primer lugar se expondrán los resultados obtenidos de la aplicación de vinazas de remolacha y después los obtenidos con las de vino. De esta forma se podrá observar con mayor facilidad las diferencias que existen en los parámetros químicos estudiados después de su aplicación mediante la técnica de biodesinfección.

4.4.2.1. Efecto sobre la fertilidad del suelo de vinazas de remolacha y vino sobre un suelo franco arenoso y ligeramente ácido de Villa del Prado (Madrid). Se utilizó un suelo franco arenoso y ligeramente ácido procedente de un invernadero de producción hortícola que había estado cultivado con tomates. Un mes después de que comenzara el experimento se dio por finalizado y se procedió a la toma de muestra para realizar el análisis químico (Tabla 4.79).

Los datos de fertilidad obtenidos después de realizar los tratamientos con vinazas de remolacha se analizaron estadísticamente, encontrando que para algunos parámetros existían diferencias estadísticamente significativas (Tabla 4.79). A pesar de que se incorporó en el suelo un producto con alto contenido en materia orgánica (MO%), cuando se analizó este parámetro no se observaron diferencias estadísticamente significativas e incluso los valores obtenidos disminuyeron con respecto al testigo, demostrando que el producto se mineraliza rápidamente. Se observó además que el pH y la conductividad eléctrica (CE) aumentaban según lo hacía la dosis, encontrándose únicamente diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con vinazas de remolacha y el testigo para los valores de pH, debidos fundamentalmente al aporte de cationes metálicos. Con respecto a los macronutrientes se observaron diferencias estadísticamente significativas para los valores de N_{total} , P_2O_5 , K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , que aumentaron en los tratamientos con vinazas de remolacha según lo hacía la dosis con respecto al testigo, con la excepción del P_2O_5 en todos los tratamientos y del N_{total} en el tratamiento de 1 ml que disminuyeron, lo que nos indicó que para ambos parámetros hay transformación microbiana. Por otro lado se observó como el K^+ aumentaba en

función de la dosis utilizada, sin olvidarnos que el comportamiento para los niveles de Na^+ fue el mismo. Al analizar los micronutrientes se observó que existían diferencias estadísticamente significativas en todos ellos, con la excepción de Zn. Los valores de Mn, Fe, Cu y Zn aumentaron en los tratamientos con vinazas de remolacha. En relación con los metales pesados, no se observó que los valores obtenidos pudieran ser perjudiciales, pero si se deberían de tener en cuenta cuando se van a utilizar los productos de forma continuada.

Tabla 4.79. Parámetros de fertilidad estudiados tras el tratamiento con vinazas de remolacha en las muestras de suelo de Villa del Prado (Madrid). Suelo arenoso y ligeramente ácido.^(*)

| Nutriente | Testigo | 1 ml | 2 ml | 3 ml | Significación asintótica |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|--------------------------|
| MO (%) | 4,57 ± 0,12 a | 4,39 ± 0,29 a | 4,35 ± 0,07 a | 4,54 ± 0,10 a | 0,076 |
| pH | 6,22 ± 0,04 a | 6,79 ± 0,06 b | 6,76 ± 0,14 b | 6,84 ± 0,23 b | 0,035 |
| CE mS/cm | 0,75 ± 0,02 a | 0,73 ± 0,07 a | 1,00 ± 0,10 a | 1,24 ± 0,00 a | 0,057 |
| g/kg | | | | | |
| C _{orgánico} | 26,5 ± 0,67 a | 25,4 ± 1,66 a | 25,2 ± 0,43 a | 26,3 ± 0,57 a | 0,076 |
| N _{total} | 2,74 ± 0,15 a | 2,64 ± 0,34 a | 3,13 ± 0,09 b | 2,85 ± 0,25 ab | 0,045 |
| P ₂ O ₅ | 0,98 ± 0,03 a | 0,86 ± 0,03 b | 0,89 ± 0,01 b | 0,90 ± 0,03 b | 0,021 |
| K ⁺ | 0,78 ± 0,04 a | 0,84 ± 0,02 b | 1,0 ± 0,06 c | 1,06 ± 0,03 c | 0,004 |
| Ca ²⁺ | 1,54 ± 0,09 a | 1,43 ± 0,04 a | 1,47 ± 0,02 a | 1,41 ± 0,10 a | 0,150 |
| Mg ²⁺ | 0,29 ± 0,01 a | 0,28 ± 0,01 b | 0,31 ± 0,01 c | 0,31 ± 0,02 c | 0,007 |
| Na ⁺ | 0,16 ± 0,07 a | 0,26 ± 0,01 b | 0,38 ± 0,03 c | 0,44 ± 0,02 d | 0,003 |
| mg/kg | | | | | |
| Mn | 122 ± 5 a | 133 ± 8 b | 130 ± 2 b | 132 ± 4 b | 0,072 |
| Fe | 321 ± 44 a | 626 ± 28 b | 601 ± 83 b | 613 ± 46 b | 0,036 |
| Cu | 14,3 ± 0,2 a | 17,3 ± 1,0 b | 16,6 ± 0,5 b | 16,8 ± 0,3 b | 0,022 |
| Zn | 13,9 ± 0,18 a | 14,9 ± 0,84 a | 14,4 ± 0,42 a | 14,9 ± 0,4 a | 0,051 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Al trabajar con vinazas de vino sobre el mismo suelo (Tabla 4.80), se observó que los tratamientos con vinaza de vino disminuyeron los niveles de materia orgánica, aunque no se encontrasen diferencias estadísticamente significativas, lo que nos puede indicar que este tipo de biodesinfectantes ayudan a la mineralización de la materia orgánica. Estos resultados pueden tener gran interés en suelos con un contenido en materia orgánica elevado. Por ello convendría estudiar si la incorporación de vinazas ayuda a la descomposición de aquellas materias orgánicas que tienen altos contenidos en fibras y sobre todo en lignina. Además, se observó con claridad cómo aumentaba el pH y disminuía la CE según se incrementaban las dosis. Con respecto a los macroelementos sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los valores de N_{total} y P₂O₅, que disminuyeron con respecto al testigo, debido posiblemente a una transformación microbiana. Para el resto de macronutrientes no se observaron diferencias estadísticamente significativas, debido

principalmente a que no se incorporaron en el suelo grandes cantidades de ellos, puesto que el valor fertilizante de las vinazas de vino es escaso en estos nutrientes. Por el contrario se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los micronutrientes, sobre todo en Fe y Cu. Los valores aumentaban según se incrementaba la dosis de tratamiento. No se observó que estos valores pudieran ser perjudiciales, pero este hecho debe de tenerse en cuenta cuando se van a aplicar estos subproductos de forma continuada.

Tabla 4.80. Parámetros de fertilidad estudiados tras el tratamiento con vinazas de vino en las muestras de suelo procedente de Villa del Prado (Madrid). Suelo arenoso y ligeramente ácido.^(*)

| Nutriente | Testigo | 1 ml | 3 ml | 5 ml | Significación asintótica |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|
| MO (%) | 4,57 ± 0,12 a | 4,40 ± 0,16 a | 4,36 ± 0,05 a | 4,24 ± 0,30 a | 0,093 |
| pH | 6,22 ± 0,04 a | 6,31 ± 0,04 a | 6,49 ± 0,03 b | 6,54 ± 0,05 b | 0,004 |
| CE mS/cm | 0,75 ± 0,02 a | 0,72 ± 0,07 a | 0,67 ± 0,03 a | 0,67 ± 0,03 a | 0,136 |
| g/kg C _{orgánico} | 26,50 ± 0,66 a | 25,50 ± 0,86 a | 25,30 ± 0,24 a | 24,55 ± 1,72 a | 0,093 |
| N _{total} | 2,74 ± 0,15 b | 2,31 ± 0,34 ab | 2,15 ± 0,18 a | 2,28 ± 0,34 ab | 0,037 |
| P ₂ O ₅ | 0,98 ± 0,03 b | 0,95 ± 0,04 b | 0,87 ± 0,02 a | 0,85 ± 0,04 a | 0,009 |
| K ⁺ | 0,78 ± 0,04 a | 0,74 ± 0,04 a | 0,74 ± 0,07 a | 0,80 ± 0,03 a | 0,181 |
| Ca ²⁺ | 1,53 ± 0,08 a | 1,46 ± 0,06 a | 1,47 ± 0,05 a | 1,49 ± 0,07 a | 0,417 |
| Mg ²⁺ | 0,26 ± 0,01 a | 0,25 ± 0,01 a | 0,24 ± 0,02 a | 0,26 ± 0,01 a | 0,188 |
| Na ⁺ | 0,16 ± 0,01 a | 0,15 ± 0,01 a | 0,16 ± 0,01 a | 0,16 ± 0,01 a | 0,495 |
| mg/kg Mn | 122 ± 5 a | 113 ± 7 a | 111 ± 7 a | 124 ± 6 a | 0,042 |
| Fe | 321 ± 44 a | 385 ± 15 b | 482 ± 36 bc | 555 ± 37 c | 0,004 |
| Cu | 14,3 ± 0,2 a | 15,8 ± 1,1 ab | 15,6 ± 0,7 ab | 16,8 ± 0,7 b | 0,014 |
| Zn | 13,9 ± 0,18 b | 12,5 ± 0,62 a | 12,5 ± 0,45 a | 13,6 ± 0,54 b | 0,013 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Como conclusión de los aportes fertilizantes por parte de las vinazas de remolacha y de vino cuando se utilizan como biodesinfectantes del suelo, debemos de destacar la función que ambas tienen como **fertilizante sobre todo en macronutrientes, siendo mayor cuando se utilizan vinazas de remolacha**. Destacar, que las vinazas de remolacha parecen tener como desventaja que aumentan la CE del suelo, debido a los aportes de K⁺ y Na⁺ principalmente, mientras que con las vinazas de vino disminuyen. **En un futuro habría que replantearse la posible mezcla de las dos vinazas para potenciar no sólo su actividad biodesinfectante, sino también su acción sobre los parámetros químicos del suelo.**

4.4.2.2. Efecto sobre la fertilidad del suelo de las vinazas de remolacha y vino sobre un suelo arcilloso y básico del San Javier (Campo de Cartagena, Murcia). Se trabajó con un suelo arcilloso y básico proveniente de un invernadero comercial de pimiento del término municipal de San Javier (Murcia). A este suelo se le aplicaron distintas dosis de

vinazas de remolacha, tomándose las muestras para el análisis químico un mes después de que comenzase el experimento y una vez que se diera por concluido el periodo de tratamiento (Tablas 4.81 y 83). En primer lugar se analizará el efecto sobre el suelo de las vinazas de remolacha (Tabla 4.81) y posteriormente el de las vinazas de vino (Tabla 4.82).

En el suelo procedente de San Javier, cuando se utilizaron vinazas de remolacha como biodesinfectantes de suelo (Tabla 4.81), se observaron menos diferencias que en el suelo de Villa del Prado (Tabla 4.79). En este caso el pH aumentó en los tratamientos con respecto al testigo, sin embargo se observó que la CE disminuía, aunque para ambos parámetros no se encontrasen diferencias estadísticamente significativas. Con respecto a los macronutrientes se observó una disminución del contenido en N_{total} y P_2O_5 en los tratamientos con vinazas de remolacha, lo que nos volvió a indicar de nuevo que hay transformación de estos elementos en fauna microbiana. El K^+ , Mg^{2+} y Na^+ aumentaron con la dosis de vinazas de remolacha aplicadas. Al estudiar los microelementos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en todos ellos, aumentando sus valores con las dosis de vinazas de remolacha utilizadas.

Tabla 4.81. Parámetros de fertilidad estudiados tras el tratamiento con vinazas de remolacha en las muestras de suelo procedente de El Campo de Cartagena (San Javier, Murcia) Suelo arcilloso y de pH básico, con alto contenido en Na^+ .^(*)

| Nutriente | Testigo | 1 ml | 2 ml | 3 ml | Significación asintótica |
|----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|
| MO (%) | 3,12 ± 0,07 a | 3,17 ± 0,19 a | 3,075 ± 0,09 a | 3,12 ± 0,017 a | 0,770 |
| pH | 7,64 ± 0,02 a | 7,67 ± 0,16 a | 7,76 ± 0,10 a | 7,73 ± 0,02 a | 0,058 |
| CE mS/cm | 3,00 ± 0,08 a | 2,84 ± 0,15 a | 2,53 ± 0,32 a | 2,82 ± 0,06 a | 0,124 |
| g/kg $C_{\text{orgánico}}$ | 18,05 ± 0,41 a | 18,35 ± 1,11 a | 17,8 ± 0,52 a | 18,1 ± 0,12 a | 0,770 |
| N_{total} | 2,15 ± 0,08 c | 1,75 ± 0,06 a | 1,87 ± 0,47 a | 1,95 ± 0,07 b | 0,049 |
| P_2O_5 | 0,40 ± 0,0 a | 0,41 ± 0,01 a | 0,39 ± 0,02 a | 0,30 ± 0,00 b | 0,006 |
| K^+ | 1,28 ± 0,05 a | 1,34 ± 0,05 a | 1,46 ± 0,04 b | 1,46 ± 0,07 b | 0,011 |
| Ca^{2+} | 3,63 ± 0,10 a | 3,59 ± 0,17 a | 3,77 ± 0,04 a | 3,61 ± 0,13 a | 0,113 |
| Mg^{2+} | 0,91 ± 0,10 a | 0,91 ± 0,05 a | 1,00 ± 0,02 ab | 0,93 ± 0,05 b | 0,046 |
| Na^+ | 0,76 ± 0,06 a | 0,81 ± 0,03 a | 0,91 ± 0,04 b | 0,92 ± 0,04 b | 0,008 |
| mg/kg Mn^{2+} | 59 ± 3 a | 82 ± 7 b | 120 ± 6 c | 119 ± 5 c | 0,005 |
| Fe | 20 ± 1 a | 23 ± 1 b | 54 ± 18 c | 99 ± 5 d | 0,003 |
| Cu | 3,5 ± 0,1 a | 3,2 ± 0,2 a | 5,6 ± 0,5 b | 5,9 ± 0,4 b | 0,007 |
| Zn | 6,7 ± 0,2 a | 6,7 ± 0,4 a | 7,7 ± 0,1 b | 7,3 ± 0,3 b | 0,011 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En este mismo suelo, después de haber realizado la biodesinfección con vinazas de vino (Tabla 4.82), se observaron algunas diferencias estadísticamente significativas (Tabla 4.80). Destacar

que en este suelo donde los valores de CE fueron mayores que en Villa del Prado, se observó con mayor claridad la disminución de la CE, aunque no se encontrasen diferencias entre los tratamientos. Este mismo fenómeno se observó cuando se utilizaron vinazas de remolacha (Tabla 4.81). Con respecto a los niveles de elementos principales en este caso se observan diferencias estadísticamente significativas en el N_{total} y P_2O_5 . Los valores de N_{total} disminuyeron según se aumentaba la dosis, lo cual nos hizo suponer de nuevo que las vinazas de vino ayudaban a la mineralización de los compuestos orgánicos. Sin embargo, los valores de P_2O_5 aumentaban en los tratamientos con vinazas de vino al contrario que ocurría en Villa del Prado, por lo que se puede suponer que **las vinazas de vino en estos suelos ayudan a solubilizar el P_2O_5** . En los demás macroelementos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Al igual que ocurría en Villa del Prado (Tabla 4.81) se observaron algunas diferencias estadísticamente significativas. Estas diferencias se debieron a que este tipo de enmiendas aportan, aunque sea en pequeñas cantidades, microelementos que pueden llegar a ser interesantes cuando sus niveles en suelo sean escasos. Lo mismo ocurría en el caso de Villa del Prado (Madrid) (Tabla 4.80). El incremento de metales pesados en suelo no presentó valores perjudiciales. Además hay que destacar que en este caso **disminuyeron los niveles de Zn, que se puede deber al aumento del pH o que se formen complejos al reaccionar el Zn con las vinazas**.

Tabla 4.82. Parámetros de fertilidad estudiados tras el tratamiento con vinazas de vino en las muestras de suelo procedente de El Campo de Cartagena (San Javier, Murcia). Suelo arcilloso y de pH básico, con alto contenido en Na^+ .^(*)

| Nutriente | Testigo | 1 ml | 3 ml | 5 ml | Significación asintótica |
|----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------|
| MO (%) | 3,12 ± 0,07 a | 3,02 ± 0,06 a | 3,11 ± 0,12 a | 3,06 ± 0,14 a | 0,497 |
| pH | 7,64 ± 0,02 a | 7,61 ± 0,04 a | 7,65 ± 0,05 ab | 7,72 ± 0,03 b | 0,030 |
| CE mS/cm | 3,00 ± 0,08 ab | 2,32 ± 0,22 a | 3,05 ± 0,28 b | 2,52 ± 0,15 ab | 0,021 |
| g/kg $C_{\text{orgánico}}$ | 18,05 ± 0,41 a | 17,50 ± 0,35 a | 18,00 ± 0,69 a | 17,70 ± 0,84 a | 0,497 |
| N_{total} | 2,15 ± 0,08 b | 1,49 ± 0,18 a | 1,44 ± 0,14 a | 1,40 ± 0,09 a | 0,029 |
| P_2O_5 | 0,40 ± 0,0 a | 0,46 ± 0,01 bc | 0,48 ± 0,0 c | 0,44 ± 0,03 ab | 0,006 |
| K^+ | 1,28 ± 0,05 a | 1,29 ± 0,02 a | 1,31 ± 0,05 a | 1,29 ± 0,06 a | 0,609 |
| Ca^{2+} | 3,63 ± 0,10 a | 3,75 ± 0,08 a | 3,71 ± 0,07 a | 3,64 ± 0,10 a | 0,221 |
| Mg^{2+} | 0,91 ± 0,06 a | 0,92 ± 0,03 a | 0,93 ± 0,04 a | 0,91 ± 0,05 a | 0,958 |
| Na^+ | 0,76 ± 0,06 a | 0,72 ± 0,02 a | 0,75 ± 0,03 a | 0,74 ± 0,04 a | 0,651 |
| mg/kg Mn^{2+} | 59 ± 3 a | 56 ± 3a | 57 ± 2 a | 61 ± 3 a | 0,130 |
| Fe | 20 ± 2 a | 19 ± 1 a | 21 ± 2,63 a | 21 ± 1,29 a | 0,358 |
| Cu | 3,5 ± 0,1 a | 4,2 ± 0,1 a | 3,2 ± 0,4 a | 3,3 ± 0,2 a | 0,267 |
| Zn | 6,7 ± 0,2 ab | 6,3 ± 0,2 a | 6,3 ± 0,4 ab | 6,8 ± 0,2 b | 0,036 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En este suelo en el que los valores de CE son más elevados que en el resto de suelos estudiados, se puede sacar como principal conclusión con respecto al otro suelo analizado de Villa del Prado (Tablas 4.79 y 80), que las vinazas, ya sean de remolacha o de vino ayudan a disminuir la CE, reduciendo así el principal problema observado en Villa del Prado. Aún así se debe tener en cuenta que los valores de Na^+ asimilable aumentaron, lo cual puede conllevar problemas de sodificación del suelo y sus posteriores consecuencias.

4.4.2.3. Efecto sobre la fertilidad del suelo de vinazas de remolacha sobre un suelo arenoso y ligeramente básico de El Perelló (Valencia). Se utilizó un suelo arenoso procedente de un invernadero comercial de producción hortícola, que había estado cultivado con verduras chinas. Un mes después de que se inició el experimento se procedió a tomar muestras de suelo para la realización de los análisis químicos (Tabla 4.83).

Tabla 4.83. Parámetros de fertilidad estudiados en las muestras de suelo procedente de El Perelló (Valencia). Suelo arenoso con pH básico.^(*)

| Nutriente | Testigo | 1 ml | 3 ml | 3 ml | 5 ml | Significación asintótica |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------------------|
| MO (%) | 1,46 ± 0,08 a | 1,45 ± 0,08 a | 1,45 ± 0,11 a | 1,53 ± 0,11 a | 1,54 ± 0,09 a | 0,427 |
| pH | 7,68 ± 0,17 a | 8,15 ± 0,06 b | 8,04 ± 0,12 b | 8,15 ± 0,11 b | 8,24 ± 0,14 b | 0,015 |
| CE mS/cm | 0,21 ± 0,02 a | 0,45 ± 0,04 b | 0,79 ± 0,01 c | 0,79 ± 0,07 c | 0,97 ± 0,07 d | 0,002 |
| g/kg | | | | | | |
| C _{orgánico} | 8,45 ± 0,48 a | 8,38 ± 0,46 a | 8,4 ± 0,62 a | 8,85 ± 0,65 a | 8,92 ± 0,54 a | 0,442 |
| N _{total} | 0,86 ± 0,14 a | 0,95 ± 0,17 a | 1,06 ± 0,13 a | 0,95 ± 0,13 a | 1,00 ± 0,07 a | 0,275 |
| P ₂ O ₅ | 0,90 ± 0,06 a | 0,84 ± 0,06 a | 0,81 ± 0,07 a | 0,84 ± 0,06 a | 0,82 ± 0,04 a | 0,291 |
| K ⁺ | 0,05 ± 0,01 a | 0,11 ± 0,01 b | 0,24 ± 0,03 c | 0,24 ± 0,01 c | 0,32 ± 0,06 c | 0,002 |
| Ca ²⁺ | 2,34 ± 0,01 a | 2,66 ± 0,06 a | 2,66 ± 0,07 a | 2,66 ± 0,04 a | 2,69 ± 0,07 a | 0,005 |
| Mg ²⁺ | 0,15 ± 0,01 a | 0,18 ± 0,01 b | 0,22 ± 0,02 c | 0,21 ± 0,01 c | 0,23 ± 0,02 c | 0,004 |
| Na ⁺ | 0,04 ± 0,01 a | 0,10 ± 0,01 b | 0,19 ± 0,02 c | 0,19 ± 0,01 c | 0,25 ± 0,04 c | 0,002 |
| mg/kg | | | | | | |
| Mn ²⁺ | 33 ± 2 a | 37 ± 2 ab | 36 ± 2 ab | 37 ± 2 ab | 42 ± 4 b | 0,031 |
| Fe | 152 ± 14 a | 181 ± 9 b | 216 ± 18 b | 213 ± 10 c | 232 ± 22 c | 0,004 |
| Cu | 4,3 ± 0,4 a | 6,8 ± 1,5 b | 6,8 ± 0,8 b | 5,8 ± 0,4 b | 5,9 ± 0,3 b | 0,020 |
| Zn | 17,5 ± 2,0 a | 17,2 ± 1,0 a | 17,4 ± 0,6 a | 17,2 ± 0,3 a | 17,5 ± 0,4 a | 0,937 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En el suelo de El Perelló sólo se realizó experimentación con vinazas de remolacha (Tabla 4.83). Los resultados obtenidos confirman los obtenidos anteriormente en los suelos de Villa del Prado (Tabla 4.79) y del Campo de Cartagena (Tabla 4.81) cuando se utilizan vinazas de remolacha. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el testigo para los valores de MO (%). Para los valores de pH y de CE si se encontraron, observando que los valores aumentaban con las dosis de vinazas de remolacha.

Lo mismo ocurre para los valores de los macroelementos N_{total} , K^+ , Mg^{2+} y Na^+ , así como de los microelementos Mn^{2+} , Fe y Cu, donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el testigo. Estos valores aumentaron con las dosis de vinazas de remolacha utilizadas.

4.4.2.4. Efecto sobre la fertilidad del suelo de vinazas de remolacha en columnas de suelo de viñedo. Suelo arenoso y ligeramente básico de Jumilla (Murcia). El ensayo se realizó en columnas de lixiviación experimentales de 1 m de altura y 14,3 cm de diámetro interior. Se aplicaron vinazas de remolacha, diluidas al 5% a razón de 25 t/ha, en tres columnas, mientras que una cuarta columna, igual a las anteriores, sirvió como testigo. En este ensayo, se estudió además el efecto fertilizante vinazas de remolacha y su capacidad de penetración en el suelo (Tabla 4.84).

Tabla 4.84. Valores medios de MO, $C_{\text{orgánico}}$, y pH en el experimento de las columnas de lixiviación con suelos de viñedo de Jumilla (Murcia).

| Profundidad (cm) | MO (%) | | $C_{\text{orgánico}}$ (g/kg) | | pH | |
|---------------------|---------|-------------|------------------------------|-------------|---------|-------------|
| | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento |
| 0-10 | 0,53 | 1,0 ± 0,24 | 3,10 | 5,77 ± 1,44 | 8,01 | 7,83 ± 0,36 |
| 10-20 | 0,44 | 0,91 ± 0,14 | 2,50 | 5,27 ± 0,80 | 8,11 | 8,08 ± 0,33 |
| 20-30 | 0,50 | 0,93 ± 0,14 | 2,90 | 5,37 ± 0,81 | 8,0 | 8,05 ± 0,30 |
| 30-40 | 0,50 | 0,93 ± 0,14 | 2,90 | 5,37 ± 0,81 | 7,96 | 7,97 ± 0,09 |
| 40-50 | 0,56 | 0,87 ± 0,17 | 3,30 | 5,0 ± 1,01 | 7,94 | 7,85 ± 0,08 |
| 50-60 | 0,56 | 0,88 ± 0,15 | 3,30 | 5,10 ± 0,89 | 7,89 | 7,82 ± 0,09 |
| 60-70 | 0,56 | 0,92 ± 0,26 | 3,30 | 5,33 ± 1,53 | 7,89 | 7,76 ± 0,09 |
| 70-80 | 0,56 | 1,0 ± 0,06 | 3,30 | 5,83 ± 0,31 | 7,86 | 7,81 ± 0,04 |
| 80-90 | 0,44 | 0,96 ± 0,07 | 2,50 | 5,57 ± 0,42 | 7,8 | 7,80 ± 0,05 |

Se observó un aumento del contenido en MO (%) y de $C_{\text{orgánico}}$ en las columnas en las que se aplicaron vinazas de remolacha con respecto al testigo donde los valores fueron aproximadamente la mitad (Tabla 4.84). En este caso no se observaron diferencias con respecto al pH, mientras que en los experimentos que se realizaron en muestras de suelo en condiciones controladas de laboratorio los valores aumentaban con respecto al testigo (Tablas 4.79, 81 y 83). Por otro lado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las profundidades estudiadas en las columnas. Debemos de recordar que se trata de un suelo arenoso en el cual la posibilidad de percolación de las vinazas una vez disueltas en el agua es mayor que si se realiza en un suelo de textura arcillosa. Cuando analizamos los macronutrientes, se observó como el N_{total} , K^+ y Na^+ , tres de los principales nutrientes que pueden aportar las vinazas de remolacha, aumentaron en los tratamientos con respecto al testigo en todas las profundidades lo cual nos confirmó que las vinazas disueltas en agua penetraron fácilmente en este tipo de suelo arenoso. Para el caso del K^+ los valores

aumentaron hasta la profundidad 40-50 cm, siendo menores por debajo de ella, sin embargo para el N_{total} y Na^+ los valores fueron más constantes y homogéneos a lo largo de toda la columna. Por otro lado, el Mg^{2+} disminuyó en las capas superficiales en las columnas tratadas con respecto al testigo, mientras que a partir de los 50-60 cm comienza a aumentar. Aún así, se observó cierta lixiviación en la columna testigo. Por último, los valores de P_2O_5 disminuyeron ligeramente en las columnas tratadas con respecto al testigo, lo que nos confirma que existe actividad microbiana.

Tabla 4.85. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el experimento de las columnas de lixiviación con suelos de viñedo de Jumilla (Murcia).

| Profundidad (cm) | N_{total} | | P_2O_5 | | K^+ | |
|------------------|--------------------|-------------|----------|-------------|---------|-------------|
| | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento |
| 0-10 | 0,44 | 0,74 ± 0,08 | 0,17 | 0,15 ± 0,04 | 0,1 | 1,04 ± 0,54 |
| 10-20 | 0,4 | 0,66 ± 0,04 | 0,17 | 0,13 ± 0,02 | 0,12 | 1,20 ± 0,35 |
| 20-30 | 0,38 | 0,69 ± 0,15 | 0,17 | 0,13 ± 0,01 | 0,13 | 1,30 ± 0,20 |
| 30-40 | 0,4 | 0,60 ± 0,11 | 0,18 | 0,14 ± 0,01 | 0,13 | 1,33 ± 0,15 |
| 40-50 | 0,4 | 0,63 ± 0,03 | 0,18 | 0,14 ± 0,02 | 0,12 | 1,13 ± 0,08 |
| 50-60 | 0,4 | 0,67 ± 0,11 | 0,17 | 0,14 ± 0,01 | 0,13 | 0,50 ± 0,21 |
| 60-70 | 0,4 | 0,77 ± 0,07 | 0,17 | 0,16 ± 0,03 | 0,13 | 0,20 ± 0,01 |
| 70-80 | 0,44 | 0,72 ± 0,17 | 0,19 | 0,15 ± 0,01 | 0,14 | 0,27 ± 0,12 |
| 80-90 | 0,4 | 0,59 ± 0,10 | 0,18 | 0,14 ± 0,01 | 0,13 | 0,27 ± 0,11 |

| Profundidad (cm) | Ca^{2+} | | Mg^{2+} | | Na^+ | |
|------------------|-----------|-------------|-----------|-------------|---------|-------------|
| | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento |
| 0-10 | 3,9 | 3,8 ± 0,0 | 0,10 | 0,06 ± 0,0 | 0,01 | 0,09 ± 0,05 |
| 10-20 | 3,9 | 3,87 ± 0,1 | 0,10 | 0,07 ± 0,01 | 0,01 | 0,11 ± 0,05 |
| 20-30 | 3,9 | 3,9 ± 0,1 | 0,10 | 0,08 ± 0,01 | 0,01 | 0,14 ± 0,03 |
| 30-40 | 3,9 | 3,9 ± 0,2 | 0,10 | 0,09 ± 0,01 | 0,01 | 0,17 ± 0,01 |
| 40-50 | 3,9 | 4,0 ± 0,2 | 0,11 | 0,11 ± 0,02 | 0,01 | 0,18 ± 0,01 |
| 50-60 | 4,0 | 4,1 ± 0,2 | 0,11 | 0,17 ± 0,04 | 0,01 | 0,17 ± 0,02 |
| 60-70 | 4,2 | 4,1 ± 0,2 | 0,11 | 0,19 ± 0,02 | 0,01 | 0,19 ± 0,02 |
| 70-80 | 4,2 | 4,0 ± 0,3 | 0,12 | 0,20 ± 0,02 | 0,01 | 0,16 ± 0,05 |
| 80-90 | 4,3 | 4,0 ± 0,1 | 0,12 | 0,20 ± 0,02 | 0,01 | 0,09 ± 0,06 |

Tabla 4.86. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el experimento de las columnas de lixiviación con suelos de viñedo de Jumilla (Murcia).

| Profundidad (cm) | Fe | | Mn | | Cu | | Zn | |
|------------------|---------|-------------|---------|-------------|---------|-------------|---------|-------------|
| | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento | Testigo | Tratamiento |
| 0-10 | 18 | 50 ± 4 | 10 | 18 ± 4 | 2,5 | 2,1 ± 0,4 | 4,5 | 4,2 ± 0,2 |
| 10-20 | 18 | 44 ± 7 | 11 | 18 ± 4 | 2,7 | 2,4 ± 0,4 | 4,2 | 4,5 ± 0,3 |
| 20-30 | 17 | 50 ± 2 | 10 | 18 ± 3 | 2,5 | 2,6 ± 0,7 | 4,0 | 4,6 ± 0,6 |
| 30-40 | 17 | 55 ± 4 | 10 | 19 ± 3 | 2,6 | 3,1 ± 1,0 | 4,4 | 4,6 ± 0,5 |
| 40-50 | 16 | 64 ± 5 | 9 | 20 ± 2 | 2,5 | 3,5 ± 1,5 | 3,6 | 4,8 ± 0,3 |
| 50-60 | 16 | 64 ± 16 | 9 | 20 ± 2 | 2,3 | 3,1 ± 0,8 | 3,5 | 4,7 ± 0,6 |
| 60-70 | 16 | 92 ± 33 | 9 | 24 ± 3 | 2,6 | 3,9 ± 0,5 | 3,4 | 4,6 ± 0,8 |
| 70-80 | 17 | 111 ± 48 | 10 | 24 ± 3 | 2,8 | 3,3 ± 0,8 | 4,4 | 5,1 ± 1,2 |
| 80-90 | 16 | 108 ± 54 | 9 | 23 ± 4 | 2,8 | 3,0 ± 0,8 | 3,7 | 4,7 ± 0,9 |

Como hemos observado en los resultados obtenidos anteriormente (Tablas 4.84-86) **las vinazas de remolacha aportan principalmente micronutrientes**. En la Tabla 4.86 se observó que, los valores de micronutrientes aumentaban en las columnas tratadas con respecto al testigo. Estos incrementos en los valores de Fe y Mn tenían lugar según aumentaba la profundidad de estudio. Por último, se produjo un aumento en el contenido de metales pesados, si bien no parece que causen problemas por lo que se deben de tener en cuenta las posibles reiteraciones de su aplicación. Al realizar los análisis estadísticos correspondientes entre las distintas profundidades, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las columnas tratadas con respecto a la testigo.

Como conclusión de este experimento debemos de resaltar la capacidad de fertilización y de penetración que tienen las vinazas de remolacha cuando se disuelven en agua como nos lo pueden confirmar algunos de los parámetros estudiados como el K^+ , Na^+ , Fe y Mn principalmente.

4.4.3. Influencia de la biodesinfección en experimentos de campo

Se estudió la influencia sobre la fertilidad del suelo de los distintos biodesinfectantes. En primer lugar se analizó que ocurría cuando se utilizaban durante tres campañas seguidas vinazas de remolacha en el ensayo que se realizó en el túnel experimental del Centro Agrario de Marchamalo de la Junta de Comunidades Castilla-La Mancha (4.4.3.1), para pasar a estudiar que el comportamiento cuando utilizamos estiércol fresco de ovino (EFO), vinazas de remolacha y de vino, BM o la mezcla de vinazas de remolacha y EFO a mitad de dosis durante una campaña en la Finca Experimental Torre Blanca perteneciente a la al Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (4.4.3.2) y terminar con los ensayos realizados en los viñedo comerciales de Membrilla, Socuéllamos y Tomelloso (Ciudad Real), donde se utilizaron vinazas de remolacha y de vino (Apartado 4.4.3.3).

4.4.3.1. Influencia de la biodesinfección con vinazas de remolacha en la fertilidad del suelo en el túnel de Marchamalo (Guadalajara). En este apartado se estudió la influencia sobre la fertilidad del suelo de la biodesinfección de suelos utilizando vinazas de remolacha y su repercusión en un ensayo con tres años de duración en el que se realizaron tres tratamientos al suelo, uno cada campaña. Antes de comenzar el experimento se lleva a cabo una toma de muestras para comprobar si todos los grupos de parcelas son estadísticamente semejantes (Tablas 4.87-89). En este primer muestreo sólo se estudiará una muestra media

recogida en los primeros 20 cm de suelo. Posteriormente en los demás estudios realizados se analizó el suelo a dos profundidades, entre 0-20 y 20-40 cm.

Tabla 4.87. Valores medios de fertilidad analizados en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) antes de realizar los ensayos de biodesinfección.^(*)

| Parámetro | Testigo | Solarización | Dosis de vinazas de remolacha + solarización | | Significación asintótica |
|------------------------------------|----------------|----------------|--|---------------------------|--------------------------|
| | | | 0,6 l/m ² (2%) | 1,5 l/m ² (5%) | |
| MO (%) | 2,47 ± 0,30 a | 3,01 ± 0,23 a | 2,68 ± 0,34 a | 2,70 ± 0,21 a | 0,170 |
| C _{orgánico} (g/kg) | 14,28 ± 1,73 a | 17,47 ± 1,36 a | 15,60 ± 1,98 a | 15,67 ± 1,24 a | 0,170 |
| pH | 7,27 ± 0,15 a | 7,21 ± 0,17 a | 7,19 ± 0,08 a | 7,25 ± 0,11 a | 0,838 |
| CE (mS/cm) | 0,79 ± 0,30 a | 1,32 ± 0,90 a | 1,09 ± 0,34 a | 0,912 ± 0,42 a | 0,706 |
| g/kg CO ₃ ²⁻ | 19,0 ± 3,16 a | 22,5 ± 5,26 a | 18,25 ± 6,99 a | 20,50 ± 4,43 a | 0,687 |
| N _{total} | 1,55 ± 0,09 a | 1,79 ± 0,29 a | 1,68 ± 0,09 a | 1,56 ± 0,11 a | 0,251 |
| P ₂ O ₅ | 1,73 ± 0,26 a | 2,03 ± 0,27 a | 1,82 ± 0,33 a | 1,83 ± 0,08 a | 0,592 |
| K ⁺ | 0,68 ± 0,19 a | 1,07 ± 0,76 a | 0,95 ± 0,29 a | 0,70 ± 0,22 a | 0,488 |
| Ca ²⁺ | 2,79 ± 0,19 a | 2,91 ± 0,30 a | 2,67 ± 0,46 a | 2,96 ± 0,13 a | 0,579 |
| Mg ²⁺ | 0,37 ± 0,02 a | 0,40 ± 0,03 a | 0,38 ± 0,05 a | 0,40 ± 0,04 a | 0,599 |
| Na ⁺ | 0,07 ± 0,01 a | 0,10 ± 0,05 a | 0,09 ± 0,02 a | 0,08 ± 0,02 a | 0,451 |
| mg/kg Fe | 67 ± 10 a | 105 ± 5 a | 85 ± 2 a | 80 ± 21 a | 0,451 |
| Mn | 86 ± 4 a | 112 ± 56 a | 106 ± 31 a | 81 ± 13 a | 0,542 |
| Cu | 1,9 ± 0,1 a | 2,40 ± 0,55 a | 2,4 ± 0,2 a | 1,9 ± 0,1 a | 0,053 |
| Zn | 6,9 ± 1,2 a | 11,2 ± 6,5 a | 8,7 ± 3,3 a | 7,5 ± 0,5 a | 0,522 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no presentan diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$). Los valores corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.87 se recogen los resultados de los análisis de fertilidad química estudiados al comienzo del ensayo, que se realizó durante tres años (Campañas 2005/2006, 2006/2007 y 2007/2008). Se observó que los bloques de parcelas son estadísticamente semejantes con respecto al contenido de nutrientes analizados, por lo que los resultados obtenidos durante este primer año de investigación nos aportarán las tendencias, que serán más difíciles de observar que en años posteriores tras la reiteración de la experimentación.

Después se realizaron los tratamientos de biodesinfección con vinazas de remolacha, utilizando dos dosis de 1,5 y 0,6 l/m², que se compararon con un tratamiento de solarización y con un testigo, a ambos sólo se les aplicó agua. Un mes después de la aplicación de los biodesinfectantes, se procedió a la retirada de plásticos y a la toma de muestras de suelo para estudiar la influencia de la solarización y de la biodesinfección de suelos con vinazas de remolacha a distintas dosis combinadas con solarización sobre los parámetros de fertilidad química estudiados en este ensayo (Tablas 4. 88-90).

Tabla 4.88. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH, CE y CO₃²⁻ en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2005/2006).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) | C g/kg | pH | CE mS/cm ^(**) | CO ₃ ²⁻ g/kg ^(**) |
|---|------------------|-------------|--------------|-------------|--------------------------|--|
| Testigo | 0-20 | 2,59 ± 0,27 | 15,03 ± 1,55 | 7,19 ± 0,09 | 1,23 ± 0,30 | 23,00 ± 5,03 |
| | 20-40 | 2,13 ± 0,37 | 12,35 ± 2,12 | 7,29 ± 0,09 | 0,88 ± 0,26 | 12,00 ± 3,92 |
| | Media | 2,36 ± 0,39 | 13,69 ± 2,24 | 7,24 ± 0,10 | 1,06 ± 0,32 | 17,50 ± 7,21 |
| | | a | a | ab | a | a |
| Solarización | 0-20 | 2,89 ± 0,19 | 16,73 ± 1,10 | 7,14 ± 0,15 | 1,81 ± 1,18 | 27,25 ± 8,54 |
| | 20-40 | 2,40 ± 0,34 | 13,93 ± 1,96 | 7,07 ± 0,13 | 1,50 ± 0,94 | 14,75 ± 6,45 |
| | Media | 2,64 ± 0,36 | 15,33 ± 2,10 | 7,10 ± 0,14 | 1,65 ± 1,00 | 21,00 ± 9,68 |
| | | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m ² (2%) + solarización | 0-20 | 2,70 ± 0,59 | 15,70 ± 3,36 | 7,32 ± 0,18 | 1,65 ± 1,12 | 23,00 ± 9,35 |
| | 20-40 | 1,86 ± 0,36 | 10,77 ± 2,10 | 7,42 ± 0,09 | 0,79 ± 0,24 | 8,33 ± 2,89 |
| | Media | 2,34 ± 0,65 | 13,59 ± 3,75 | 7,36 ± 0,15 | 1,28 ± 0,93 | 16,71 ± 10,39 |
| | | a | a | b | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 2,69 ± 0,22 | 15,58 ± 1,24 | 7,49 ± 0,08 | 1,29 ± 0,21 | 25,25 ± 2,75 |
| | 20-40 | 2,09 ± 0,57 | 12,13 ± 3,29 | 7,58 ± 0,09 | 0,79 ± 0,30 | 8,50 ± 3,42 |
| | Media | 2,39 ± 0,51 | 13,85 ± 2,95 | 7,53 ± 0,09 | 1,04 ± 0,36 | 16,88 ± 9,40 |
| | | a | a | c | a | a |
| Significación asintótica | | 0,355 | 0,36 | 0,000 | 0,576 | 0,902 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.88 se recogen los datos obtenidos de los análisis de MO, C_{orgánico}, pH, CE y CO₃²⁻ después de concluir el periodo de biodesinfección. Se encontraron únicamente **diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en los valores de pH**, que aumentaban, según lo hacía la dosis del biodesinfectante utilizado, con respecto al testigo. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en los valores MO (%), a pesar de que las vinazas de remolacha procedentes de alcoholera son un producto con alto porcentaje en MO, principalmente en forma de ácidos húmicos y fúlvicos, que son muy lábiles y se mineralizan fácilmente. Se observó además que los tratamientos con vinazas pueden ayudar a mineralizar la materia orgánica existente en los suelos, puesto que se produjo una ligera disminución con respecto al testigo y al tratamiento de solarización, e incluso con respecto a los resultados de los análisis realizados antes de incorporar las vinazas (Tabla 4.87). La CE fue otro de los parámetros analizados en los que se encontraron diferencias estadísticamente significativas, los valores aumentaron en los tratamientos con vinazas de remolacha y con la dosis respectivamente, al igual que el pH. El incremento del pH y CE se debió principalmente a la incorporación en el suelo de cationes metálicos presentes en las vinazas de remolacha aplicadas.

Tabla 4.89. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2005/2006).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} | P ₂ O ₅ | K ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | Na ⁺ |
|--|------------------|--------------------|-------------------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|
| Testigo | 0-20 | 1,62 ± 0,13 | 0,42 ± 0,09 | 0,83 ± 0,26 | 2,91 ± 0,09 | 0,40 ± 0,03 | 0,11 ± 0,04 |
| | 20-40 | 1,26 ± 0,34 | 1,40 ± 0,27 | 0,80 ± 0,12 | 2,64 ± 0,26 | 0,37 ± 0,04 | 0,08 ± 0,03 |
| | Media | 1,44 ± 0,30 | 0,91 ± 0,55 | 0,82 ± 0,19 | 2,78 ± 0,23 | 0,38 ± 0,04 | 0,09 ± 0,03 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 1,84 ± 0,32 | 0,29 ± 0,19 | 0,82 ± 0,11 | 3,05 ± 0,11 | 0,43 ± 0,07 | 0,14 ± 0,06 |
| | 20-40 | 1,44 ± 0,29 | 1,28 ± 0,68 | 1,14 ± 0,42 | 2,76 ± 0,31 | 0,39 ± 0,05 | 0,11 ± 0,06 |
| | Media | 1,64 ± 0,35 | 0,79 ± 0,70 | 0,98 ± 0,33 | 2,90 ± 0,26 | 0,41 ± 0,06 | 0,13 ± 0,06 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m ² (2%)+ solarización | 0-20 | 1,74 ± 0,39 | 0,44 ± 0,03 | 1,01 ± 0,47 | 2,90 ± 0,42 | 0,44 ± 0,12 | 0,18 ± 0,08 |
| | 20-40 | 1,19 ± 0,27 | 1,21 ± 0,19 | 0,95 ± 0,28 | 2,42 ± 0,33 | 0,33 ± 0,06 | 0,09 ± 0,01 |
| | Media | 1,50 ± 0,44 | 0,77 ± 0,43 | 0,98 ± 0,37 | 2,69 ± 0,44 | 0,39 ± 0,11 | 0,14 ± 0,07 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%)+ solarización | 0-20 | 1,81 ± 0,31 | 0,43 ± 0,06 | 1,02 ± 0,15 | 2,89 ± 0,09 | 0,45 ± 0,07 | 0,24 ± 0,07 |
| | 20-40 | 1,11 ± 0,35 | 1,00 ± 0,53 | 0,94 ± 0,19 | 2,53 ± 0,25 | 0,40 ± 0,05 | 0,13 ± 0,06 |
| | Media | 1,46 ± 0,48 | 0,71 ± 0,46 | 0,98 ± 0,17 | 2,71 ± 0,26 | 0,42 ± 0,06 | 0,19 ± 0,08 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Significación Asintótica | | 0,716 | 0,808 | 0,289 | 0,42 | 0,456 | 0,077 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Tabla 4.90. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2005/2006).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe | B | Mn | Cu | Zn |
|---|------------------|----------|-------------|---------|-----------|-----------|
| Testigo | 0-20 | 44 ± 8 | 0,68 ± 0,17 | 63 ± 5 | 1,3 ± 0,1 | 5,2 ± 1,0 |
| | 20-40 | 54 ± 13 | 0,65 ± 0,24 | 86 ± 19 | 1,8 ± 0,2 | 5,2 ± 1,1 |
| | Media | 49 ± 11 | 0,66 ± 0,19 | 74 ± 12 | 1,5 ± 0,3 | 5,2 ± 1,0 |
| | | a | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 56 ± 14 | 0,88 ± 0,24 | 69 ± 13 | 1,5 ± 0,3 | 6,5 ± 1,1 |
| | 20-40 | 69 ± 19 | 0,83 ± 0,56 | 95 ± 28 | 2,4 ± 0,7 | 7,0 ± 1,7 |
| | Media | 62 ± 17 | 0,85 ± 0,40 | 86 ± 21 | 1,9 ± 0,7 | 6,7 ± 1,4 |
| | | a | a | ab | abc | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m ² (2%) + solarización | 0-20 | 61 ± 18 | 0,85 ± 0,34 | 80 ± 6 | 1,7 ± 0,3 | 6,0 ± 1,5 |
| | 20-40 | 63 ± 15 | 0,63 ± 0,25 | 91 ± 25 | 2,4 ± 0,3 | 5,4 ± 1,0 |
| | Media | 62 ± 15 | 0,76 ± 0,30 | 85 ± 16 | 2,0 ± 0,5 | 5,7 ± 1,2 |
| | | a | a | bc | b | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 136 ± 41 | 0,75 ± 0,17 | 92 ± 8 | 2,4 ± 0,4 | 5,9 ± 1,2 |
| | 20-40 | 85 ± 13 | 0,73 ± 0,35 | 92 ± 8 | 2,6 ± 0,2 | 5,2 ± 1,3 |
| | Media | 111 ± 39 | 0,74 ± 0,26 | 92 ± 8 | 2,5 ± 0,3 | 5,5 ± 1,2 |
| | | b | a | c | c | a |
| Significación Asintótica | | 0,001 | 0,803 | 0,032 | 0,009 | 0,137 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.89 se recogen los resultados obtenidos del análisis de macronutrientes después del periodo de biodesinfección. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para ninguno de los parámetros estudiados. Los valores de K^+ y Na^+ asimilables aumentaron en los tratamientos con vinazas de remolacha y con la dosis. Por otro lado, en la Tabla 4.90 se recogen los valores de micronutrientes analizados después del periodo de biodesinfección. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para **los valores de Fe, Mn y Cu, que aumentaron en los tratamientos con vinazas de remolacha** y fueron más elevados con la dosis de $1,5 \text{ l/m}^2$. Además se observó un incremento en el contenido de Fe asimilable en el tratamiento de solarización, aunque no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas con el testigo.

Después de que se diera por concluido el periodo de biodesinfección se realizó un cultivo de acelgas cv “Amarillo de Lyon”. Tras su recolección se realizó una toma de muestras de suelo para estudiar la evolución de la fertilidad química de los tratamientos (Tablas 4.91 y 92).

Tabla 4.91. Valores medios de MO, $C_{\text{orgánico}}$, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del primer cultivo de acelgas (Campaña 2005/2006).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) | $C_{\text{orgánico}}$ g/kg | pH | CE mS/cm ^(**) |
|--|------------------|-------------|----------------------------|-------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 2,62 ± 0,38 | 1,52 ± 0,22 | 7,76 ± 0,07 | 0,33 ± 0,02 |
| | 20-40 | 1,84 ± 0,75 | 1,07 ± 0,43 | 7,64 ± 0,08 | 0,36 ± 0,10 |
| | Media | 2,23 ± 0,69 | 1,29 ± 0,40 | 7,70 ± 0,09 | 0,34 ± 0,07 |
| | | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 2,61 ± 0,11 | 1,51 ± 0,07 | 7,80 ± 0,12 | 0,35 ± 0,05 |
| | 20-40 | 2,18 ± 0,31 | 1,27 ± 0,18 | 7,63 ± 0,08 | 0,40 ± 0,11 |
| | Media | 2,39 ± 0,31 | 1,39 ± 0,18 | 7,71 ± 0,13 | 0,38 ± 0,08 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m ² (2%) + solarización | 0-20 | 2,88 ± 0,40 | 1,67 ± 0,24 | 7,76 ± 0,14 | 0,41 ± 0,09 |
| | 20-40 | 2,16 ± 0,17 | 1,25 ± 0,10 | 7,67 ± 0,05 | 0,41 ± 0,07 |
| | Media | 2,52 ± 0,48 | 1,47 ± 0,28 | 7,72 ± 0,10 | 0,41 ± 0,08 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 2,68 ± 0,34 | 1,56 ± 0,19 | 7,79 ± 0,06 | 0,41 ± 0,05 |
| | 20-40 | 2,22 ± 0,48 | 1,29 ± 0,28 | 7,65 ± 0,08 | 0,47 ± 0,10 |
| | Media | 2,45 ± 0,46 | 1,42 ± 0,26 | 7,72 ± 0,10 | 0,44 ± 0,08 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,959 | 0,966 | 0,976 | 0,070 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.91 se recogen los resultados de los análisis de MO, $C_{\text{orgánico}}$, pH y CE obtenidos después del cultivo de acelgas. No aparecieron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros estudiados, aunque se observó que los valores de CE eran más elevados en los tratamientos con vinazas de remolacha y aumentaban con la dosis.

Tabla 4.92. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del primer cultivo de acelgas (Campaña 2005/2006).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} | P ₂ O ₅ | K ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | Na ⁺ |
|---|------------------|--------------------|-------------------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|
| Testigo | 0-20 | 1,34 ± 0,15 | 1,89 ± 0,33 | 0,54 ± 0,21 | 2,15 ± 0,26 | 0,34 ± 0,02 | 0,04 ± 0,01 |
| | 20-40 | 1,16 ± 0,37 | 1,28 ± 0,62 | 0,69 ± 0,24 | 1,96 ± 0,29 | 0,36 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 |
| | Media | 1,25 ± 0,28 | 1,58 ± 0,57 | 0,62 ± 0,23 | 2,05 ± 0,27 | 0,35 ± 0,02 | 0,04 ± 0,01 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 1,42 ± 0,10 | 2,01 ± 0,09 | 0,64 ± 0,34 | 2,24 ± 0,34 | 0,32 ± 0,05 | 0,04 ± 0,01 |
| | 20-40 | 1,28 ± 0,08 | 1,61 ± 0,13 | 0,86 ± 0,48 | 2,13 ± 0,27 | 0,35 ± 0,05 | 0,04 ± 0,01 |
| | Media | 1,35 ± 0,11 | 1,81 ± 0,24 | 0,75 ± 0,40 | 2,18 ± 0,29 | 0,34 ± 0,05 | 0,04 ± 0,01 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m² (2%) + solarización | 0-20 | 1,49 ± 0,18 | 2,24 ± 0,43 | 0,75 ± 0,32 | 2,39 ± 0,45 | 0,38 ± 0,06 | 0,05 ± 0,01 |
| | 20-40 | 1,28 ± 0,02 | 1,56 ± 0,31 | 0,75 ± 0,28 | 2,08 ± 0,20 | 0,35 ± 0,05 | 0,06 ± 0,01 |
| | Media | 1,39 ± 0,17 | 1,90 ± 0,50 | 0,75 ± 0,28 | 2,24 ± 0,36 | 0,37 ± 0,05 | 0,06 ± 0,01 |
| | | a | a | a | a | ab | b |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) + solarización | 0-20 | 1,52 ± 0,16 | 2,01 ± 0,33 | 0,68 ± 0,07 | 2,19 ± 0,27 | 0,41 ± 0,04 | 0,07 ± 0,01 |
| | 20-40 | 1,43 ± 0,25 | 1,70 ± 0,35 | 0,72 ± 0,19 | 2,25 ± 0,40 | 0,41 ± 0,06 | 0,09 ± 0,01 |
| | Media | 1,47 ± 0,20 | 1,86 ± 0,35 | 0,70 ± 0,13 | 2,22 ± 0,32 | 0,41 ± 0,05 | 0,08 ± 0,01 |
| | | a | a | a | a | c | c |
| Significación asintótica | | 0,286 | 0,701 | 0,807 | 0,736 | 0,029 | 0,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Tabla 4.93. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del primer cultivo de acelgas (Campaña 2005/2006).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe | Mn | Cu | Zn |
|---|------------------|----------|----------|-----------|------------|
| Testigo | 0-20 | 60 ± 12 | 117 ± 7 | 1,4 ± 0,3 | 6,5 ± 1,06 |
| | 20-40 | 65 ± 27 | 145 ± 10 | 1,7 ± 0,3 | 5,2 ± 1,86 |
| | Media | 62 ± 20 | 131 ± 17 | 1,5 ± 0,3 | 5,9 ± 1,58 |
| | | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 64 ± 10 | 119 ± 31 | 1,7 ± 0,7 | 7,2 ± 2,5 |
| | 20-40 | 65 ± 4 | 148 ± 25 | 2,9 ± 1,5 | 10,2 ± 5,5 |
| | Media | 65 ± 7 | 133 ± 28 | 2,3 ± 1,1 | 8,7 ± 4,0 |
| | | a | a | ab | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m² (2%) + solarización | 0-20 | 112 ± 21 | 143 ± 26 | 2,1 ± 0,2 | 7,6 ± 0,6 |
| | 20-40 | 92 ± 25 | 155 ± 21 | 2,0 ± 0,3 | 6,6 ± 0,7 |
| | Media | 102 ± 24 | 149 ± 23 | 2,1 ± 0,2 | 7,1 ± 0,8 |
| | | b | a | b | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) + solarización | 0-20 | 180 ± 23 | 141 ± 11 | 2,6 ± 0,1 | 7,1 ± 0,6 |
| | 20-40 | 144 ± 34 | 174 ± 18 | 2,8 ± 0,3 | 6,9 ± 1,1 |
| | Media | 162 ± 33 | 157 ± 23 | 2,7 ± 0,3 | 6,9 ± 0,9 |
| | | c | a | c | a |
| Significación asintótica | | 0,000 | 0,104 | 0,000 | 0,092 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.92 se recogen los resultados de los macroelementos obtenidos después del cultivo de la acelga. Sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en los valores de Na^+ asimilable, que fueron más elevados con las vinazas de remolacha y aumentaban según la dosis. En la Tabla 4.93 se pueden observar los valores de micronutrientes analizados después del cultivo de la acelga. Se observaron prácticamente las mismas diferencias estadísticamente significativas que en los análisis realizados después del periodo de biodesinfección (Tabla 4.90). Los **valores de Fe, Mn y Cu fueron mayores en los tratamientos con vinazas de remolacha y aumentaron según lo hacía la dosis.**

Siguiendo con el plan de cultivos establecido, después se realizó un cultivo de tomate cv “Daniela” y pepino cv “Serena” en primavera-verano, a los cuales se les aplicó la misma fertilización. Después del cultivo se realizó una toma de muestras para ver la influencia de los tratamientos en la fertilidad del suelo (Tablas 4.94-96).

Tablas 4.94. Valores medios de MO, $C_{\text{orgánico}}$, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del segundo cultivo de tomates y pepinos.^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) | C g/kg | pH | CE mS/cm ^(**) |
|---|------------------|------------------|--------------|-------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 2,62 ± 0,18 | 15,23 ± 1,03 | 7,89 ± 0,19 | 0,93 ± 0,35 |
| | 20-40 | 2,59 ± 0,32 | 14,98 ± 1,87 | 7,72 ± 0,34 | 0,85 ± 0,12 |
| | Media | 2,61 ± 0,24 | 15,10 ± 1,41 | 7,80 ± 0,27 | 0,89 ± 0,25 |
| | | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 2,72 ± 0,19 | 15,83 ± 1,12 | 7,64 ± 0,20 | 1,46 ± 0,21 |
| | 20-40 | 2,93 ± 0,22 | 17,03 ± 1,27 | 7,45 ± 0,34 | 1,20 ± 0,26 |
| | Media | 2,83 ± 0,22 | 16,43 ± 1,26 | 7,54 ± 0,27 | 1,33 ± 0,26 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m ² (2%) + solarización | 0-20 | 2,69 ± 0,17 | 15,63 ± 1,07 | 7,77 ± 0,38 | 1,05 ± 0,03 |
| | 20-40 | 2,68 ± 0,18 | 15,60 ± 1,04 | 7,50 ± 0,25 | 1,05 ± 0,24 |
| | Media | 2,69 ± 0,16 | 15,62 ± 0,95 | 7,63 ± 0,32 | 1,05 ± 0,15 |
| | | a ^(*) | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 2,82 ± 0,34 | 16,33 ± 2,00 | 7,89 ± 0,06 | 1,35 ± 0,46 |
| | 20-40 | 2,03 ± 0,74 | 11,75 ± 4,28 | 7,80 ± 0,24 | 0,77 ± 0,22 |
| | Media | 2,42 ± 0,68 | 14,04 ± 3,94 | 7,84 ± 0,17 | 1,06 ± 0,45 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,271 | 0,271 | 0,074 | 0,064 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.94 se recogen los datos obtenidos de los análisis de MO, $C_{\text{orgánico}}$, pH, CE y CO_3^{2-} después del segundo cultivo de la campaña 2005/2006 de tomate y pepino. No se observaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros estudiados (Tablas 4.89 y 92).

Tabla 4.95. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del segundo cultivo de tomates y pepinos (Campaña 2005/2006).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} | P ₂ O ₅ | K ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | Na ⁺ |
|---|------------------|--------------------|-------------------------------|----------------|------------------|------------------|-----------------|
| Testigo | 0-20 | 1,64 ± 0,25 | 2,08 ± 0,32 | 0,50 ± 0,23 | 1,28 ± 0,13 | 0,33 ± 0,04 | 0,19 ± 0,06 |
| | 20-40 | 1,65 ± 0,22 | 1,92 ± 0,35 | 0,58 ± 0,23 | 1,17 ± 0,08 | 0,31 ± 0,03 | 0,19 ± 0,04 |
| | Media | 1,64 ± 0,22 | 2,00 ± 0,32 | 0,54 ± 0,22 | 1,22 ± 0,12 | 0,32 ± 0,04 | 0,19 ± 0,05 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 1,89 ± 0,08 | 2,38 ± 0,09 | 0,72 ± 0,09 | 1,22 ± 0,04 | 0,33 ± 0,03 | 0,22 ± 0,06 |
| | 20-40 | 1,92 ± 0,17 | 2,26 ± 0,16 | 0,72 ± 0,11 | 1,27 ± 0,10 | 0,33 ± 0,03 | 0,20 ± 0,03 |
| | Media | 1,90 ± 0,12 | 2,32 ± 0,13 | 0,72 ± 0,09 | 1,25 ± 0,08 | 0,33 ± 0,03 | 0,21 ± 0,04 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m ² (2%) + solarización | 0-20 | 1,59 ± 0,13 | 2,30 ± 0,23 | 0,65 ± 0,10 | 1,21 ± 0,12 | 0,33 ± 0,05 | 0,19 ± 0,07 |
| | 20-40 | 1,63 ± 0,15 | 2,17 ± 0,23 | 0,69 ± 0,16 | 1,21 ± 0,13 | 0,33 ± 0,03 | 0,18 ± 0,04 |
| | Media | 1,61 ± 0,13 | 2,24 ± 0,22 | 0,67 ± 0,12 | 1,21 ± 0,11 | 0,33 ± 0,04 | 0,18 ± 0,05 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 1,67 ± 0,20 | 2,05 ± 0,21 | 0,74 ± 0,13 | 1,14 ± 0,17 | 0,34 ± 0,06 | 0,25 ± 0,07 |
| | 20-40 | 1,46 ± 0,56 | 1,59 ± 0,70 | 0,66 ± 0,06 | 1,01 ± 0,14 | 0,30 ± 0,04 | 0,18 ± 0,03 |
| | Media | 1,56 ± 0,41 | 1,82 ± 0,54 | 0,70 ± 0,10 | 1,07 ± 0,16 | 0,32 ± 0,05 | 0,21 ± 0,06 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Significación Asintótica | | 0,096 | 0,050 | 0,357 | 0,073 | 0,871 | 0,855 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Tabla 4.96. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del segundo cultivo de tomate y pepino (Campaña 2005/2006).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe | Mn | Cu | Zn |
|---|------------------|---------|---------|-----------|-----------|
| Testigo | 0-20 | 38 ± 4 | 76 ± 5 | 1,5 ± 0,2 | 4,9 ± 0,7 |
| | 20-40 | 38 ± 6 | 75 ± 9 | 1,5 ± 0,2 | 4,7 ± 1,1 |
| | Media | 38 ± 5 | 76 ± 7 | 1,5 ± 0,2 | 4,8 ± 0,8 |
| | | a | a | a | a |
| Solarización | 0-20 | 41 ± 6 | 73 ± 14 | 1,5 ± 0,2 | 5,6 ± 0,5 |
| | 20-40 | 41 ± 4 | 72 ± 11 | 1,6 ± 0,0 | 5,5 ± 0,6 |
| | Media | 41 ± 4 | 72 ± 12 | 1,6 ± 0,1 | 5,6 ± 0,5 |
| | | ab | a | a | a |
| Vin. remolacha 0,6 l/m ² (2%) + solarización | 0-20 | 62 ± 23 | 79 ± 9 | 1,7 ± 0,4 | 5,4 ± 0,6 |
| | 20-40 | 52 ± 15 | 80 ± 2 | 1,7 ± 0,2 | 5,1 ± 0,6 |
| | Media | 57 ± 18 | 79 ± 9 | 1,7 ± 0,3 | 5,3 ± 0,6 |
| | | bc | ab | ab | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 98 ± 34 | 86 ± 7 | 2,0 ± 0,3 | 5,2 ± 0,7 |
| | 20-40 | 68 ± 28 | 86 ± 7 | 1,9 ± 0,1 | 4,2 ± 1,6 |
| | Media | 83 ± 31 | 86 ± 7 | 1,9 ± 0,2 | 4,7 ± 1,2 |
| | | c | b | b | a |
| Significación Asintótica * | | 0,004 | 0,048 | 0,002 | 0,182 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.95 se recogen los resultados de los análisis de microelementos obtenidos después del cultivo de tomates y pepinos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, aunque se observó que **los valores de K⁺ y Na⁺ asimilable fueron más elevados en la dosis de 1,5 l/m² de vinazas de remolacha. Estos dos parámetros contribuyeron presumiblemente en la CE, sin embargo en el tratamiento de solarización es los valores fueron más elevados** (Tabla 4.94). Por otro lado, en los resultados de microelementos aparecieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para el **Fe, Mn²⁺, Cu y Zn que fueron más elevados en las con vinazas de remolacha (Tabla 4.96)**.

En el segundo año de experimentación, como se ha comentado anteriormente, se modificaron los tratamientos y en algunos de ellos se cambiaron algunas parcelas de las que constaba el ensayo debido a la pérdida de superficie del túnel. Estos cambios no afectaron al tratamiento con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m², en el que se observó el año anterior que fue el más eficaz. Los tratamientos para las dos siguientes campañas pasaron a ser tres: un testigo y dos tratamientos con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m², uno de ellos combinado con solarización (Fig. 3.8, Apartado 3.7.1). Por este motivo se necesitó conocer cuál era la situación de partida, por lo que se realizó un análisis estadístico con la nueva disposición del ensayo. Los resultados obtenidos del análisis se recogen en las Tablas 4.97-99, observando que no partimos de situaciones semejantes, existiendo diferencias estadísticamente para la mayoría de los parámetros químicos analizados, excepto para el Ca²⁺, Fe y Cu, debido a que tanto la aplicación de vinazas de remolacha a dosis de 0,6 l/m² como la solarización presentaron diferencias para estos valores.

Tabla 4.97. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) antes de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) | C g/kg | pH | CE mS/cm ^(**) |
|---|------------------|-------------|--------------|-------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 2,63 ± 0,06 | 15,28 ± 0,34 | 7,86 ± 0,16 | 1,14 ± 0,56 |
| | 20-40 | 2,73 ± 0,38 | 15,83 ± 2,22 | 7,70 ± 0,37 | 1,02 ± 0,34 |
| | Media | 2,68 ± 0,26 | 15,55 ± 1,50 | 7,78 ± 0,28 | 1,08 ± 0,43 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) | 0-20 | 2,62 ± 0,21 | 15,23 ± 1,26 | 7,89 ± 0,19 | 1,11 ± 0,06 |
| | 20-40 | 2,72 ± 0,29 | 15,83 ± 1,63 | 7,65 ± 0,23 | 0,95 ± 0,16 |
| | Media | 2,67 ± 0,24 | 15,53 ± 1,39 | 7,77 ± 0,23 | 1,03 ± 0,14 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) + solarización | 0-20 | 2,82 ± 0,34 | 16,33 ± 2,0 | 7,89 ± 0,06 | 1,35 ± 0,46 |
| | 20-40 | 2,03 ± 0,74 | 11,75 ± 4,28 | 7,80 ± 0,24 | 0,77 ± 0,22 |
| | Media | 2,42 ± 0,68 | 14,04 ± 3,94 | 7,84 ± 0,17 | 1,06 ± 0,45 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,701 | 0,701 | 0,774 | 0,811 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.97 se recogen los resultados de los análisis de MO, C_{orgánico}, pH y CE determinados para la situación de partida para la campaña 2006/2007. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las parcelas de los nuevos bloques de ensayo, aunque se puede observar que **la CE es más elevada en el tratamiento con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m²**, en el cual no se realizó ningún cambio.

Tabla 4.98. Valores medios de macronutrientes (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) al inicio del experimento (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} ^(**) | P ₂ O ₅ ^(**) | K ⁺ | Ca ²⁺ ^(*) | Mg ²⁺ | Na ⁺ ^(**) |
|---|------------------|------------------------------------|---|----------------|---------------------------------|------------------|---------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,69 ± 0,23 | 2,12 ± 0,34 | 0,52 ± 0,26 | 1,27 ± 0,08 | 0,35 ± 0,03 | 0,23 ± 0,05 |
| | 20-40 | 1,79 ± 0,30 | 2,06 ± 0,36 | 0,56 ± 0,22 | 1,25 ± 0,11 | 0,33 ± 0,03 | 0,20 ± 0,02 |
| | Media | 1,74 ± 0,26 | 2,09 ± 0,33 | 0,54 ± 0,23 | 1,26 ± 0,09 | 0,34 ± 0,03 | 0,21 ± 0,03 |
| | | a | a | a | b | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 1,68 ± 0,24 | 2,30 ± 0,23 | 0,64 ± 0,08 | 1,27 ± 0,11 | 0,33 ± 0,05 | 0,19 ± 0,07 |
| | 20-40 | 1,64 ± 0,13 | 2,27 ± 0,16 | 0,66 ± 0,10 | 1,23 ± 0,09 | 0,33 ± 0,05 | 0,18 ± 0,06 |
| | Media | 1,66 ± 0,18 | 2,28 ± 0,18 | 0,65 ± 0,08 | 1,25 ± 0,10 | 0,33 ± 0,04 | 0,19 ± 0,06 |
| | | a | a | a | ab | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 1,67 ± 0,20 | 2,05 ± 0,21 | 0,74 ± 0,13 | 1,14 ± 0,17 | 0,34 ± 0,06 | 0,25 ± 0,07 |
| | 20-40 | 1,46 ± 0,56 | 1,59 ± 0,70 | 0,66 ± 0,06 | 1,01 ± 0,14 | 0,30 ± 0,04 | 0,18 ± 0,03 |
| | Media | 1,56 ± 0,41 | 1,82 ± 0,54 | 0,70 ± 0,10 | 1,07 ± 0,16 | 0,32 ± 0,05 | 0,21 ± 0,06 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,746 | 0,086 | 0,172 | 0,024 | 0,841 | 0,705 |

^(*) Diferencias estadísticamente significativas en la profundidad. ^(**) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Tabla 4.99. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) al inicio del experimento (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe ^(**) | Mn | Cu | Zn ^(**) |
|---|------------------|--------------------|---------|------------|--------------------|
| Testigo | 0-20 | 40 ± 5 | 77 ± 11 | 1,6 ± 0,1 | 5,3 ± 0,7 |
| | 20-40 | 39 ± 5 | 77 ± 6 | 1,6 ± 0,1 | 5,0 ± 0,8 |
| | Media | 39 ± 5 | 77 ± 8 | 1,6 ± 0,1 | 5,1 ± 0,7 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 54 ± 24 | 79 ± 6 | 1,7 ± 0,33 | 5,3 ± 0,8 |
| | 20-40 | 50 ± 14 | 82 ± 7 | 1,7 ± 0,25 | 5,2 ± 0,8 |
| | Media | 52 ± 18 | 81 ± 6 | 1,7 ± 0,27 | 5,3 ± 0,8 |
| | | ab | a | ab | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 98 ± 28 | 86 ± 7 | 2,0 ± 0,3 | 5,2 ± 0,7 |
| | 20-40 | 68 ± 28 | 86 ± 7 | 1,9 ± 0,1 | 4,2 ± 1,6 |
| | Media | 83 ± 31 | 86 ± 7 | 1,9 ± 0,2 | 4,7 ± 1,2 |
| | | b | a | b | a |
| Significación Asintótica | | 0,010 | 0,090 | 0,004 | 0,709 |

^(*) Diferencias estadísticamente significativas en la profundidad. ^(**) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.98 se muestran los valores de macroelementos de los que partiremos para la realización del siguiente año de experimentación. Como puede observarse, los valores de partida fueron similares para todos los tratamientos, existiendo únicamente diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los **valores de Ca^{2+} asimilable, que, como se comprobó al final del cultivo de la campaña 2005/2006, presentaba los valores más bajos cuando se aplicaron vinazas de remolacha** (Tabla 4.95). Por el contrario, a pesar que durante el cultivo la aplicación de fertilizantes fue igual para todos los tratamientos, se observó que **el contenido en K^+ fue mayor en el tratamiento con vinazas de remolacha**. Por otro lado, **no se observó que el contenido en Na^+ sea mayor en las vinazas de remolacha combinadas con solarización con respecto al testigo**. En el análisis de microelementos se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al Fe y Cu, y así como al final del cultivo anterior **los valores más altos se observaron en las vinazas de remolacha a $1,5 \text{ l/m}^2$ cubierto con plástico**, que a su vez fue el tratamiento que no sufrió ningún cambio de parcela. También se observó que **el contenido en Mn^{2+} es mayor en el tratamiento con vinazas de remolacha cubierto con plástico**, aunque no se encontrasen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Tabla 4.99).

Después del cultivo del tomate y pepino se realizaron los tratamientos de la campaña 2006/2007. Los tratamientos duraron desde el 29-8-06 al 29-9-08. Al dar por finalizado el periodo de desinfección se realizó una toma de muestras de suelo para analizar los efectos de los tratamientos sobre la fertilidad del suelo estudiada en el trabajo (Tablas 4.100-102).

Tabla 4.100. Valores medios de MO, $\text{C}_{\text{orgánico}}$, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH ^(**) | CE mS/cm ^(**) |
|---|------------------|------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 2,38 ± 0,36 | 13,80 ± 2,15 | 7,36 ± 0,14 | 1,26 ± 0,81 |
| | 20-40 | 1,23 ± 0,49 | 7,10 ± 2,81 | 7,86 ± 0,07 | 0,51 ± 0,13 |
| | Media | 1,80 ± 0,73 | 10,45 ± 4,26 | 7,61 ± 0,29 | 0,88 ± 0,67 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha $1,5 \text{ l/m}^2$ (5%) | 0-20 | 2,65 ± 0,34 | 15,33 ± 1,92 | 7,64 ± 0,05 | 1,25 ± 0,31 |
| | 20-40 | 1,72 ± 0,53 | 10,03 ± 3,09 | 7,83 ± 0,09 | 0,66 ± 0,28 |
| | Media | 2,18 ± 0,64 | 12,68 ± 3,70 | 7,74 ± 0,12 | 0,95 ± 0,42 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha $1,5 \text{ l/m}^2$ (5%) + solarización | 0-20 | 2,91 ± 0,20 | 16,88 ± 1,11 | 7,78 ± 0,14 | 1,39 ± 0,38 |
| | 20-40 | 1,37 ± 0,28 | 7,90 ± 1,59 | 7,85 ± 0,07 | 0,62 ± 0,08 |
| | Media | 2,14 ± 0,85 | 12,39 ± 4,96 | 7,81 ± 0,11 | 1,0 ± 0,48 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,581 | 0,581 | 0,356 | 0,483 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.100 se recogen los resultados obtenidos de MO (%), $C_{\text{orgánico}}$, pH y CE después realizar los tratamientos. En ellos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros estudiados. Sin embargo se observó que en **los tratamientos con vinazas de remolacha estén o no cubiertos con plástico los valores de MO, pH y CE aumentaron**, debido fundamentalmente al aporte realizado por parte de estas, tanto en MO como en cationes.

Tabla 4.101. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N_{total} ^(**) | P_2O_5 ^(**) | K^+ | Ca^{2+} ^(**) | Mg^{2+} ^(**) | Na^{+} ^(**) |
|--|------------------|------------------------------------|--------------------------|-------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,62 ± 0,27 | 1,98 ± 0,45 | 0,60 ± 0,32 | 1,21 ± 0,30 | 0,32 ± 0,07 | 0,19 ± 0,06 |
| | 20-40 | 0,48 ± 0,31 | 0,97 ± 0,56 | 0,63 ± 0,18 | 0,90 ± 0,22 | 0,26 ± 0,03 | 0,12 ± 0,03 |
| | Media | 1,05 ± 0,67 | 1,48 ± 0,72 | 0,61 ± 0,24 | 1,05 ± 0,29 | 0,29 ± 0,06 | 0,16 ± 0,06 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) | 0-20 | 1,84 ± 0,22 | 2,06 ± 0,36 | 0,74 ± 0,24 | 1,23 ± 0,13 | 0,37 ± 0,04 | 0,31 ± 0,03 |
| | 20-40 | 0,91 ± 0,24 | 1,40 ± 0,53 | 0,63 ± 0,17 | 0,89 ± 0,18 | 0,26 ± 0,04 | 0,13 ± 0,03 |
| | Media | 1,37 ± 0,54 | 1,73 ± 0,55 | 0,68 ± 0,20 | 1,06 ± 0,24 | 0,32 ± 0,07 | 0,22 ± 0,10 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%)+ solarización | 0-20 | 1,84 ± 0,09 | 2,16 ± 0,14 | 0,98 ± 0,21 | 1,09 ± 0,04 | 0,39 ± 0,03 | 0,43 ± 0,10 |
| | 20-40 | 0,81 ± 0,07 | 1,04 ± 0,19 | 0,69 ± 0,14 | 0,88 ± 0,12 | 0,27 ± 0,03 | 0,15 ± 0,03 |
| | Media | 1,32 ± 0,56 | 1,60 ± 0,62 | 0,84 ± 0,22 | 0,99 ± 0,14 | 0,33 ± 0,07 | 0,29 ± 0,17 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Significación Asintótica | | 0,524 | 0,773 | 0,210 | 0,737 | 0,379 | 0,190 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

La Tabla 4.101, recoge los resultados de los análisis de macroelementos en el suelo obtenidos después de realizar los tratamientos. Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos del ensayo, **todos los valores de macronutrientes aumentaron donde se realizó biodesinfección de suelos con vinazas de remolacha, con la excepción del Ca^{2+} asimilable** cuyos valores fueron similares en todos los tratamientos. Este comportamiento se observó sobre todo en los tratamientos que estaban cubiertos con plástico y que se reiteran el tratamiento. **Se observó que estos incrementos se dan principalmente en los valores de N_{total} , K^+ y Na^+ , debido a que las vinazas de remolacha son ricas en estos elementos.** Por otro lado, en la Tabla 4.102 se recogen los resultados de los análisis de microelementos obtenidos después del periodo de biodesinfección del suelo. Al igual que ocurrió con los macroelementos (Tabla 4.100), las diferencias más significativas entre los tratamientos se encontraron en el tratamiento con vinazas de remolacha cubierto con plástico, que es el que se repite y el que presenta los valores más elevados, con respecto al testigo y al tratamiento con vinazas de remolacha que no llevaba plástico los demás. Se observaron

diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para **los valores de Fe y Cu, que aumentaron en los tratamientos con vinazas de remolacha**. Las diferencias fueron mayores en el tratamiento cubierto con plástico, que además de estar combinado con solarización. El año anterior se comprobó que en el tratamiento de solarización los valores de Fe y Cu se incrementaban (Tabla 4.90). Con respecto al Mn y Zn no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, observándose que en los tratamientos con vinazas de remolacha los valores fueron más elevados con respecto al testigo, como ocurrió el año anterior (Tabla 4.91).

Tabla 4.102. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe ^(**) | Mn | Cu | Zn ^(**) |
|--|------------------|--------------------|---------------|-------------|--------------------|
| Testigo | 0-20 | 34,75 ± 3,10 | 69,75 ± 9,78 | 1,40 ± 0,08 | 4,30 ± 0,42 |
| | 20-40 | 29,50 ± 11,03 | 79,25 ± 6,55 | 1,80 ± 0,57 | 3,28 ± 1,75 |
| | Media | 32,13 ± 8,01 | 74,50 ± 9,23 | 1,60 ± 0,43 | 3,79 ± 1,30 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 59,25 ± 13,96 | 79,75 ± 11,18 | 1,78 ± 0,29 | 4,95 ± 0,41 |
| | 20-40 | 35,0 ± 7,07 | 80,0 ± 6,48 | 1,63 ± 0,17 | 3,33 ± 0,74 |
| | Media | 47,13 ± 16,52 | 79,88 ± 8,46 | 1,70 ± 0,23 | 4,14 ± 1,03 |
| | | ab | a | ab | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 180,25 ± 51,87 | 90,75 ± 5,85 | 2,93 ± 0,61 | 5,95 ± 0,45 |
| | 20-40 | 42,0 ± 4,97 | 82,75 ± 8,66 | 1,83 ± 0,22 | 2,63 ± 0,36 |
| | Media | 111,13 ± 81,39 | 86,75 ± 8,07 | 2,38 ± 0,73 | 4,29 ± 1,82 |
| | | b | a | b | a |
| Significación Asintótica | | 0,008 | 0,050 | 0,011 | 0,753 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Posteriormente, dentro de la rotación planificada, se realizó un cultivo invernadero de acelga cv “Amarillo de Lyon”, planta adaptada al invierno de la zona y que además es capaz de extraer gran cantidad de Na⁺ asimilable del suelo. Una vez concluido el cultivo de la acelga, se realizó una toma de muestras del suelo para estudiar la evolución de la fertilidad a lo largo del tiempo. Los resultados obtenidos del análisis de la fertilidad química del suelo después del cultivo de acelgas, se recogen en las Tablas 4.103-105.

Por otro lado, se debe de señalar que los valores obtenidos para este muestreo fueron superiores al resto de análisis realizados anteriormente. Sin embargo, estos se presentan en todos los tratamientos, por lo que se aceptaron como válidos para poder comparar los tipos de tratamiento.

Tabla 4.103. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de acelgas (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH ^(**) | CE mS/cm |
|---|------------------|------------------------|------------------------|--------------------|-------------|
| Testigo | 0-20 | 2,41 ± 0,58 | 14,0 ± 3,38 | 8,08 ± 0,22 | 0,32 ± 0,08 |
| | 20-40 | 1,57 ± 0,67 | 9,10 ± 3,92 | 7,97 ± 0,15 | 0,46 ± 0,11 |
| | Media | 1,99 ± 0,73 | 11,55 ± 4,28 | 8,03 ± 0,18 | 0,39 ± 0,11 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 2,99 ± 0,44 | 17,35 ± 2,54 | 8,06 ± 0,05 | 0,64 ± 0,17 |
| | 20-40 | 1,52 ± 0,57 | 8,78 ± 3,34 | 7,93 ± 0,11 | 0,61 ± 0,11 |
| | Media | 2,25 ± 0,92 | 13,06 ± 5,34 | 7,99 ± 0,11 | 0,63 ± 0,13 |
| | | a | a | a | b |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 2,64 ± 0,25 | 15,33 ± 1,44 | 8,13 ± 0,11 | 0,43 ± 0,12 |
| | 20-40 | 1,32 ± 0,56 | 7,65 ± 3,26 | 7,89 ± 0,11 | 0,51 ± 0,13 |
| | Media | 1,98 ± 0,81 | 11,49 ± 4,72 | 8,01 ± 0,17 | 0,47 ± 0,12 |
| | | a | a | a | ab |
| Significación asintótica | | 0,709 | 0,709 | 0,992 | 0,006 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Tabla 4.104. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de acelgas (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} ^(**) | P ₂ O ₅ ^(**) | K ⁺ | Ca ²⁺ ^(**) | Mg ²⁺ ^(**) | Na ⁺ |
|---|------------------|------------------------------------|---|----------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------|
| Testigo | 0-20 | 1,37 ± 0,3 | 1,80 ± 0,5 | 0,47 ± 0,1 | 2,41 ± 0,2 | 0,39 ± 0,02 | 0,07 ± 0,03 |
| | 20-40 | 0,96 ± 0,4 | 1,18 ± 0,6 | 0,60 ± 0,2 | 2,22 ± 0,5 | 0,39 ± 0,03 | 0,09 ± 0,01 |
| | Media | 1,16 ± 0,4 | 1,49 ± 0,6 | 0,54 ± 0,1 | 2,31 ± 0,4 | 0,39 ± 0,02 | 0,08 ± 0,02 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 1,74 ± 0,4 | 1,88 ± 0,9 | 0,78 ± 0,3 | 2,63 ± 0,3 | 0,52 ± 0,08 | 0,15 ± 0,08 |
| | 20-40 | 1,02 ± 0,3 | 1,09 ± 0,5 | 0,63 ± 0,3 | 2,14 ± 0,4 | 0,41 ± 0,06 | 0,14 ± 0,02 |
| | Media | 1,38 ± 0,5 | 1,48 ± 0,8 | 0,71 ± 0,3 | 2,39 ± 0,4 | 0,47 ± 0,09 | 0,15 ± 0,05 |
| | | a | a | a | a | a | b |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 1,69 ± 0,2 | 1,98 ± 0,2 | 0,72 ± 0,2 | 2,47 ± 0,2 | 0,45 ± 0,05 | 0,10 ± 0,04 |
| | 20-40 | 0,90 ± 0,3 | 0,91 ± 0,5 | 0,65 ± 0,1 | 1,89 ± 0,3 | 0,37 ± 0,06 | 0,15 ± 0,03 |
| | Media | 1,29 ± 0,5 | 1,44 ± 0,7 | 0,69 ± 0,1 | 2,18 ± 0,3 | 0,41 ± 0,07 | 0,13 ± 0,04 |
| | | a | a | a | a | a | ab |
| Significación Asintótica | | 0,706 | 0,998 | 0,135 | 0,633 | 0,114 | 0,011 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.103 se recogen los resultados de los análisis obtenidos de MO, C_{orgánico}, pH y CE después del cultivo de acelgas. Los resultados fueron similares a los que se obtuvieron después de realizar los tratamientos (Tabla 4.98), por lo no se observaron diferencias estadísticamente significativas para los valores de MO (%), C_{orgánico}, pH. Sin embargo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de CE, presentando el tratamiento de vinazas de remolacha que no está cubierto con plástico los valores más elevados a ambas profundidades, seguido en una situación estadística intermedia por el

tratamiento cubierto con plástico y por el testigo respectivamente. El mismo comportamiento fue el mismo que se obtuvo después del cultivo de la acelga de la campaña anterior 2007/2008 (Tabla 4.112), aunque en este último no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. En el análisis de macroelementos (Tabla 4.104) no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos, con la excepción del Na^+ , que fue mayor en los tratamientos sin plástico, presentando el mismo comportamiento que la CE (Tabla 4.103). Además, se debe de tener en cuenta que, los valores fueron más elevados después de realizar los tratamientos se encontraban en el tratamiento que combinaba vinazas de remolacha con solarización (Tablas 4.101). Como se comentó anteriormente este fenómeno también se observó después del cultivo de acelga en la campaña posterior (2007/2008, Tabla 4.113). Al analizar el K^+ asimilable observamos el mismo fenómeno, aunque no existiesen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Este fenómeno se pudo deber a que la sola presencia del plástico provocó que las formas asimilables sean mejor absorbidas por el cultivo de acelga.

Tabla 4.105. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de acelgas (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe ^(**) | Mn ^(**) | Cu | Zn ^(**) |
|--|------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------------------|
| Testigo | 0-20 | 62 ± 14 | 114 ± 14 | 2,2 ± 0,1 | 7,9 ± 1,7 |
| | 20-40 | 58 ± 17 | 139 ± 20 | 2,4 ± 0,3 | 6,5 ± 3,5 |
| | Media | 60 ± 15 | 127 ± 20 | 2,3 ± 0,3 | 7,2 ± 2,6 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 109 ± 29 | 139 ± 6 | 3,0 ± 0,5 | 9,8 ± 2,0 |
| | 20-40 | 67 ± 22 | 146 ± 17 | 2,4 ± 0,2 | 5,9 ± 1,8 |
| | Media | 88 ± 33 | 142 ± 13 | 2,7 ± 0,5 | 7,8 ± 2,7 |
| | | ab | a | ab | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 215 ± 27 | 142 ± 12 | 3,4 ± 0,3 | 9,0 ± 0,7 |
| | 20-40 | 82 ± 28 | 159 ± 9 | 2,6 ± 0,3 | 5,7 ± 2,2 |
| | Media | 148 ± 76 | 150 ± 14 | 3,0 ± 0,5 | 7,3 ± 2,3 |
| | | b | a | b | a |
| Significación Asintótica | | 0,020 | 0,042 | 0,014 | 0,873 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.105, se recogen los valores de los microelementos analizados después del cultivo de la acelga. De nuevo se hizo patente que existían diferencias estadísticamente significativas en los valores de Fe y Cu, entre los tratamientos con vinazas de remolacha cubiertos con plástico y el testigo, siendo el tratamiento con vinazas de remolacha sin cubrir con plástico común a ambos grupos. Las diferencias fueron las mismas que después de realizar los tratamientos (Tabla 4.102). Estas diferencias no sólo se debieron a que el tratamiento con vinazas de remolacha cubierto con plástico lleve ya dos años sobre las

mismas parcelas y los otros dos no, si no también al efecto sinérgico que aporta la temperatura con presencia de plástico, comprobada con los resultados del año anterior en el tratamiento de solarización (Tabla 4.89). Con respecto al Mn y Zn asimilables se observó la misma tendencia que con el K^+ y Na^+ , aunque menos acusada.

Siguiendo con el plan de rotación de cultivos propuesto para la zona, después del cultivo de la acelga se realizó el segundo cultivo de la campaña de tomate cv “Daniela”, que es susceptible a los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Una vez que se terminó el cultivo y se analizaron los parámetros de las plantas a estudiar, se realizó una toma de muestras para estudiar la evolución de los parámetros de fertilidad del suelo estudiados en el tiempo. En las Tablas 4.106-108 se recogen los resultados obtenidos de los análisis de las muestras de suelo recogidas después del cultivo de tomates.

Tabla 4.106. Valores medios de MO, $C_{orgánico}$, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) tras el cultivo de tomate (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH | CE mS/cm ^(**) |
|--|------------------|------------------------|------------------------|-------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,88 ± 0,26 | 10,93 ± 1,52 | 7,66 ± 0,11 | 0,24 ± 0,02 |
| | 20-40 | 0,86 ± 0,15 | 4,98 ± 0,88 | 7,67 ± 0,06 | 0,18 ± 0,04 |
| | Media | 1,37 ± 0,58 | 7,95 ± 3,38 | 7,67 ± 0,08 | 0,21 ± 0,04 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 2,18 ± 0,25 | 12,63 ± 1,43 | 7,49 ± 0,30 | 0,29 ± 0,02 |
| | 20-40 | 1,08 ± 0,09 | 6,25 ± 0,49 | 7,70 ± 0,12 | 0,23 ± 0,02 |
| | Media | 1,63 ± 0,61 | 9,44 ± 3,55 | 7,59 ± 0,24 | 0,26 ± 0,04 |
| | | a | a | a | ab |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 2,14 ± 0,42 | 12,45 ± 2,45 | 7,75 ± 0,08 | 0,35 ± 0,06 |
| | 20-40 | 1,07 ± 0,16 | 6,20 ± 0,96 | 7,72 ± 0,05 | 0,28 ± 0,11 |
| | Media | 1,61 ± 0,64 | 9,33 ± 3,76 | 7,74 ± 0,07 | 0,32 ± 0,09 |
| | | a | a | a | b |
| Significación asintótica | | 0,386 | 0,386 | 0,152 | 0,014 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.106, se recogen los resultados de los análisis de MO (%), $C_{orgánico}$, pH y CE realizados después del segundo cultivo de la campaña de tomate. Sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas para los valores de CE, apareciendo dos grupos claramente diferenciados, el primero incluyó el tratamiento con vinazas de remolacha cubierto con plástico, que presentaba los valores más elevados y otro grupo quedó representado por el testigo, que recogía los valores inferiores, quedando en un grupo común a ambos el tratamiento con vinazas de remolacha sin cubrir con plástico. El comportamiento después del cultivo de tomate fue totalmente distinto al que se observó después de la acelga, en el cual el tratamiento sin plástico presentaba los valores más elevados (Tabla 4.103).

Tabla 4.107. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de tomate (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} ^(**) | P ₂ O ₅ ^(**) | K ⁺ | Ca ²⁺ ^(**) | Mg ²⁺ | Na ⁺ ^(**) |
|--|------------------|------------------------------------|---|----------------|----------------------------------|------------------|---------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,22 ± 0,15 | 1,49 ± 0,31 | 0,39 ± 0,10 | 2,02 ± 0,11 | 0,32 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 |
| | 20-40 | 0,66 ± 0,11 | 0,45 ± 0,15 | 0,55 ± 0,22 | 1,45 ± 0,35 | 0,26 ± 0,05 | 0,05 ± 0,01 |
| | Media | 0,94 ± 0,32 | 0,97 ± 0,60 | 0,47 ± 0,18 | 1,73 ± 0,39 | 0,29 ± 0,05 | 0,05 ± 0,01 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 1,37 ± 0,22 | 1,65 ± 0,30 | 0,55 ± 0,16 | 2,23 ± 0,37 | 0,37 ± 0,04 | 0,06 ± 0,01 |
| | 20-40 | 0,85 ± 0,11 | 0,71 ± 0,10 | 0,59 ± 0,14 | 1,55 ± 0,12 | 0,27 ± 0,02 | 0,08 ± 0,02 |
| | Media | 1,11 ± 0,32 | 1,18 ± 0,54 | 0,57 ± 0,14 | 1,89 ± 0,44 | 0,32 ± 0,06 | 0,07 ± 0,02 |
| | | a | a | a | a | a | b |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%)+ solarización | 0-20 | 1,40 ± 0,23 | 1,63 ± 0,25 | 0,61 ± 0,08 | 2,38 ± 0,18 | 0,38 ± 0,05 | 0,08 ± 0,03 |
| | 20-40 | 0,80 ± 0,09 | 0,60 ± 0,16 | 0,70 ± 0,07 | 1,87 ± 0,18 | 0,32 ± 0,05 | 0,11 ± 0,02 |
| | Media | 1,10 ± 0,36 | 1,11 ± 0,58 | 0,66 ± 0,09 | 2,12 ± 0,32 | 0,35 ± 0,05 | 0,09 ± 0,02 |
| | | a | a | a | a | a | b |
| Significación Asintótica | | 0,489 | 0,496 | 0,064 | 0,192 | 0,247 | 0,002 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Tabla 4.108. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de tomate (Campaña 2006/2007).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe ^(**) | Mn | Cu ^(**) | Zn ^(**) |
|---|------------------|--------------------|-----------|--------------------|--------------------|
| Testigo | 0-20 | 52 ± 11 | 114 ± 14 | 1,4 ± 0,2 | 7,3 ± 1,4 |
| | 20-40 | 25 ± 6 | 94 ± 12 | 1,0 ± 0,2 | 3,0 ± 1,0 |
| | Media | 38 ± 16 | 104 ± 16 | 1,2 ± 0,2 | 5,1 ± 2,6 |
| | | a | ab | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 63 ± 28 | 104 ± 10 | 1,3 ± 0,3 | 7,1 ± 1,7 |
| | 20-40 | 35 ± 7 | 101 ± 2 | 1,1 ± 0,1 | 4,1 ± 0,4 |
| | Media | 49 ± 24 | 102 ± 7 | 1,2 ± 0,2 | 5,6 ± 2,0 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 106 ± 22 | 120 ± 7,3 | 1,7 ± 0,2 | 7,4 ± 1,3 |
| | 20-40 | 48 ± 13 | 130 ± 26 | 1,22 ± 0,23 | 3,72 ± 1,01 |
| | Media | 77 ± 35 | 125 ± 19 | 1,44 ± 0,31 | 5,55 ± 2,23 |
| | | a | b | a | a |
| Significación Asintótica | | 0,052 | 0,022 | 0,155 | 0,854 |

^(*) Diferencias estadísticamente significativas en la profundidad. ^(**)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tablas 4.107 y 4.108, se recogen los valores de macroelementos tras el análisis de la fertilidad del suelo realizado después del cultivo de tomates. Sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas para los valores de Na⁺ asimilable, presentándose dos grupos claramente diferenciados, uno formado por los dos tratamientos con vinazas de remolacha y el otro por el testigo. El comportamiento observado fue similar al obtenido el año anterior tras el cultivo de tomate y pepino (Tabla 4.95), observándose que los valores de N_{total}, K⁺ y Mg²⁺ fueron más elevados en los tratamientos con vinazas de remolacha, mientras que por el

contrario, se observó que **los valores de Ca²⁺ asimilable son mayores que en el resto de tratamientos** con respecto al año anterior. Por otro lado para los micronutrientes se observó que en este caso sólo aparecieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los valores de Mn. Además se observó que **los valores de Fe y Cu**, que en análisis anteriores de esta campaña presentaban diferencias estadísticamente significativas (Tablas 4.102 y 108), **aumentaban de manera especial en los tratamientos con vinazas de remolacha recubiertos con plástico.**

El experimento se repitió durante la campaña 2007/2008. El ensayo realizado durante esta campaña fue una continuación del de la campaña anterior 2006/2007, es decir dos tratamientos con vinazas de remolacha a las dosis de 1,5 l/m² uno cubierto con plástico y el otro no, así como un tratamiento testigo, puesto que en este año no se cambió ninguna parcela de ubicación. Tomamos como datos de partida de este año los obtenidos después del cultivo de tomate del año anterior. Como se comentó anteriormente y al igual que ocurría durante la campaña anterior (Tablas 4.97-99), partimos de datos que no son estadísticamente significativos para los valores de CE, Na⁺ y Mn. Se realizaron los tratamientos y pasado el periodo de biodesinfección del suelo (24-9-2007/24-10-2007), se realizó una toma de muestras de suelo para ver la evolución de los parámetros químicos estudiados en el tiempo tras la reiteración, en unos casos durante tres años y en otros casos durante dos años. En la Tabla 4.109 se recogen los valores de los parámetros químicos del suelo estudiados después de realizar los tratamientos de la campaña 2007/2008.

Tabla 4.109. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2006/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH | CE mS/cm ^(**) |
|--|------------------|------------------------|------------------------|-------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 2,08 ± 0,19 | 12,08 ± 1,12 | 7,57 ± 0,05 | 0,32 ± 0,03 |
| | 20-40 | 1,15 ± 0,30 | 6,68 ± 1,70 | 7,67 ± 0,19 | 0,60 ± 0,76 |
| | Media | 1,62 ± 0,55 | 9,38 ± 3,18 | 7,62 ± 0,14 | 0,46 ± 0,52 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 2,33 ± 0,34 | 13,53 ± 1,96 | 7,97 ± 0,06 | 0,74 ± 0,24 |
| | 20-40 | 1,23 ± 0,07 | 7,13 ± 0,46 | 7,98 ± 0,09 | 0,26 ± 0,15 |
| | Media | 1,78 ± 0,63 | 10,33 ± 3,67 | 7,98 ± 0,07 | 0,50 ± 0,32 |
| | | a | a | b | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-2 | 2,29 ± 0,12 | 13,25 ± 0,75 | 7,73 ± 0,09 | 0,82 ± 0,10 |
| | 20-40 | 1,36 ± 0,30 | 7,90 ± 1,75 | 7,71 ± 0,10 | 0,32 ± 0,06 |
| | Media | 1,82 ± 0,54 | 10,58 ± 3,12 | 7,72 ± 0,09 | 0,57 ± 0,28 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,599 | 0,599 | 0,000 | 0,236 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.109, se recogen los resultados de los análisis obtenidos de MO, C_{orgánico}, pH y CE después de realizar los tratamientos y pasado el periodo de biodesinfección de la campaña 2007/2008. Como en años anteriores no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, aunque se observó la misma tendencia que en años anteriores, es decir que **aumentaban todos los valores en los tratamientos con vinazas de remolacha**.

En la Tabla 4.110 se recogen los resultados de los macroelementos obtenidos después de de realizar los tratamientos y pasado el periodo de biodesinfección de la campaña 2007/2008.

Tabla 4.110. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} ^(**) | P ₂ O ₅ ^(**) | K ⁺ | Ca ²⁺ ^(**) | Mg ²⁺ | Na ⁺ ^(**) |
|---|------------------|------------------------------------|---|----------------|----------------------------------|------------------|---------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,26 ± 0,15 | 1,83 ± 0,24 | 0,44 ± 0,12 | 2,43 ± 0,16 | 0,34 ± 0,01 | 0,06 ± 0,01 |
| | 20-40 | 0,72 ± 0,19 | 0,87 ± 0,20 | 0,58 ± 0,15 | 1,92 ± 0,36 | 0,31 ± 0,02 | 0,07 ± 0,01 |
| | Media | 0,99 ± 0,33 | 1,35 ± 0,55 | 0,51 ± 0,15 | 2,17 ± 0,37 | 0,33 ± 0,03 | 0,07 ± 0,01 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 1,79 ± 0,18 | 1,73 ± 0,34 | 0,85 ± 0,13 | 2,49 ± 0,15 | 0,42 ± 0,03 | 0,20 ± 0,03 |
| | 20-40 | 0,85 ± 0,05 | 0,97 ± 0,09 | 0,61 ± 0,12 | 1,72 ± 0,09 | 0,29 ± 0,04 | 0,10 ± 0,02 |
| | Media | 1,32 ± 0,52 | 1,35 ± 0,47 | 0,73 ± 0,17 | 2,11 ± 0,43 | 0,35 ± 0,08 | 0,15 ± 0,06 |
| | | a | a | ab | a | a | b |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 1,68 ± 0,17 | 1,73 ± 0,15 | 0,95 ± 0,13 | 2,36 ± 0,41 | 0,47 ± 0,04 | 0,25 ± 0,03 |
| | 20-40 | 0,94 ± 0,17 | 1,16 ± 0,33 | 0,70 ± 0,14 | 1,87 ± 0,23 | 0,32 ± 0,03 | 0,11 ± 0,01 |
| | Media | 1,31 ± 0,42 | 1,44 ± 0,38 | 0,83 ± 0,19 | 2,11 ± 0,41 | 0,40 ± 0,09 | 0,18 ± 0,07 |
| | | a | a | b | a | a | b |
| Significación Asintótica | | 0,253 | 0,900 | 0,008 | 0,885 | 0,388 | 0,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Tras los análisis realizados en los macronutrientes aparecieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para **los valores de K⁺ y Na⁺ asimilables** en los tratamientos que llevan vinazas de remolacha y que en años anteriores no se observaban. En este sentido, en los análisis de las campañas anteriores se observó que los valores **fueron mayores en los tratamientos con vinazas de remolacha**, a los que debemos adicionar la aportación de ellos en la nueva aplicación de vinazas de remolacha por lo que es normal que se encontrasen estas diferencias.

En la Tabla 4.111 se recogen los resultados de los análisis de microelementos obtenidos después de realizar los tratamientos. En los micronutrientes analizados fue donde más

diferencias estadísticamente significativas se encontraron. El contenido en Fe presentaba diferencias estadísticamente significativas idénticas con respecto al año anterior (Tabla 4.102), diferenciándose claramente dos grupos uno formado por el testigo, que fue el que tuvo los valores inferiores y otro formado por el tratamiento con vinazas de remolacha cubierto con plástico que fue el que tenía los valores más elevados. **Este año, como no ocurría en años anteriores se produjeron diferencias estadísticamente significativas en el Mn en los tratamientos con vinazas de remolacha ya estuviese cubierta o no con plástico.** En los años anteriores ya se observaba que los valores eran mayores cuando el tratamiento era con vinazas de remolacha. Lo mismo ocurre para el Cu, que presentaba diferencias estadísticamente significativas en el mismo muestreo del año anterior (Tabla 4.102).

Tablas 4.111. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe ^(**) | Mn ^(**) | Cu | Zn ^(**) |
|--|------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------------------|
| Testigo | 0-20 | 55 ± 10 | 120 ± 13 | 1,9 ± 0,2 | 7,5 ± 1,5 |
| | 20-40 | 35 ± 4 | 125 ± 15 | 2,0 ± 0,4 | 4,1 ± 0,9 |
| | Media | 45 ± 12 | 122 ± 13 | 1,9 ± 0,3 | 5,8 ± 2,2 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 79 ± 16 | 131 ± 9 | 1,6 ± 0,2 | 8,3 ± 1,5 |
| | 20-40 | 37 ± 10 | 107 ± 13 | 1,5 ± 0,2 | 3,6 ± 0,5 |
| | Media | 58 ± 26 | 119 ± 16 | 1,6 ± 0,2 | 6,0 ± 2,7 |
| | | ab | b | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 211 ± 26 | 143 ± 16 | 2,7 ± 0,2 | 8,5 ± 0,9 |
| | 20-40 | 71 ± 16 | 140 ± 10 | 2,1 ± 0,2 | 4,6 ± 0,9 |
| | Media | 141 ± 77 | 142 ± 12 | 2,4 ± 0,4 | 6,6 ± 2,3 |
| | | b | b | b | a |
| Significación Asintótica | | 0,006 | 0,015 | 0,001 | 0,652 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Al igual que en años anteriores, después de realizar los tratamientos de biodesinfección del suelos se realizó un cultivo de acelgas cv “Amarillo de Lyon” durante el invierno. Tras el cultivo se realizó un análisis los parámetros de fertilidad a lo largo del tiempo. En las Tablas 4.112-114, se recogen los resultados obtenidos tras los análisis químicos. Para los valores de MO (%), C_{orgánico}, pH y CE no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, aunque se observó que los valores de CE son más elevados para los tratamientos con vinazas de remolacha (Tabla 4.112).

Tabla 4.112. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de acelgas (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH | CE mS/cm ^(**) |
|---|------------------|------------------------|------------------------|-------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,97 ± 0,30 | 11,36 ± 1,74 | 7,72 ± 0,12 | 0,37 ± 0,24 |
| | 20-40 | 1,09 ± 0,22 | 6,27 ± 1,27 | 7,06 ± 0,67 | 0,22 ± 0,07 |
| | Media | 1,53 ± 0,53 | 8,82 ± 3,06 | 7,39 ± 0,57 | 0,29 ± 0,18 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) | 0-20 | 2,18 ± 0,31 | 12,57 ± 1,81 | 7,71 ± 0,39 | 0,63 ± 0,10 |
| | 20-40 | 1,25 ± 0,33 | 7,23 ± 1,90 | 7,63 ± 0,08 | 0,35 ± 0,09 |
| | Media | 1,71 ± 0,58 | 9,90 ± 3,34 | 7,67 ± 0,26 | 0,49 ± 0,18 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) + solarización | 0-20 | 2,02 ± 0,15 | 11,69 ± 0,87 | 7,83 ± 0,07 | 0,59 ± 0,13 |
| | 20-40 | 1,09 ± 0,15 | 6,32 ± 0,86 | 7,45 ± 0,38 | 0,25 ± 0,04 |
| | Media | 1,56 ± 0,52 | 9,0 ± 2,98 | 7,64 ± 0,32 | 0,42 ± 0,20 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,765 | 0,765 | 0,450 | 0,068 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Tablas 4.113. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de acelgas (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} ^(**) | P ₂ O ₅ ^(**) | K ⁺ | Ca ²⁺ ^(**) | Mg ²⁺ | Na ⁺ ^(**) |
|---|------------------|------------------------------------|---|----------------|----------------------------------|------------------|---------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,20 ± 0,28 | 1,72 ± 0,50 | 0,42 ± 0,08 | 2,34 ± 0,35 | 0,41 ± 0,03 | 0,05 ± 0,01 |
| | 20-40 | 0,69 ± 0,05 | 0,85 ± 0,28 | 0,60 ± 0,14 | 1,90 ± 0,23 | 0,38 ± 0,02 | 0,06 ± 0,01 |
| | Media | 0,94 ± 0,33 | 1,29 ± 0,60 | 0,51 ± 0,14 | 2,12 ± 0,36 | 0,39 ± 0,03 | 0,06 ± 0,01 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) | 0-20 | 1,21 ± 0,49 | 1,81 ± 0,42 | 0,67 ± 0,23 | 1,95 ± 0,33 | 0,43 ± 0,06 | 0,13 ± 0,04 |
| | 20-40 | 0,71 ± 0,19 | 0,88 ± 0,28 | 0,55 ± 0,16 | 1,54 ± 0,21 | 0,33 ± 0,04 | 0,12 ± 0,02 |
| | Media | 0,96 ± 0,43 | 1,34 ± 0,60 | 0,61 ± 0,20 | 1,74 ± 0,34 | 0,38 ± 0,07 | 0,12 ± 0,03 |
| | | a | a | a | a | a | b |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) + solarización | 0-20 | 1,01 ± 0,33 | 1,76 ± 0,15 | 0,62 ± 0,05 | 2,39 ± 0,48 | 0,49 ± 0,08 | 0,09 ± 0,01 |
| | 20-40 | 0,61 ± 0,06 | 0,80 ± 0,17 | 0,71 ± 0,13 | 1,64 ± 0,38 | 0,36 ± 0,08 | 0,11 ± 0,02 |
| | Media | 0,81 ± 0,31 | 1,28 ± 0,53 | 0,67 ± 0,10 | 2,02 ± 0,56 | 0,42 ± 0,10 | 0,10 ± 0,01 |
| | | a | a | a | a | a | b |
| Significación Asintótica | | 0,550 | 0,961 | 0,099 | 0,203 | 0,432 | 0,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.113, se recogen los resultados de los análisis de macronutrientes obtenidos después del cultivo de acelgas de la campaña 2007/2008. Sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de Na⁺ asimilable, lo que explicaría el incremento en los valores de CE. Tanto para la CE como para el Na⁺ asimilable se observa el mismo comportamiento que el año anterior (Tabla 4.109), donde los valores de estos parámetros fueron más elevados en el tratamiento de vinazas de remolacha que no lleva plástico, a pesar de que los valores mayores en los análisis realizados después de haber

concluido el periodo de biodesinfección (Tabla 4.109) ocurrían en el tratamiento que está combinado con solarización (Tabla 4.109). Al analizar el K^+ asimilable se observó que ocurría lo mismo en este año y en el anterior que para la CE y Na^+ asimilable. Por otro lado, aunque no se encontrasen diferencias estadísticamente significativas, se observó que el Ca^{2+} asimilable al igual que ocurría el año pasado aumentó en el tratamiento con plástico.

Tabla 4.114. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de acelgas (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe ^(**) | Mn ^(**) | Cu | Zn ^(**) |
|---|------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------------------|
| Testigo | 0-20 | 44 ± 8 | 100 ± 10 | 1,9 ± 0,2 | 6,5 ± 1,8 |
| | 20-40 | 33 ± 5 | 119 ± 19 | 2,1 ± 0,3 | 3,8 ± 1,6 |
| | Media | 38 ± 8 | 109 ± 17 | 2,0 ± 0,3 | 5,1 ± 2,2 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) | 0-20 | 60 ± 22 | 107 ± 10 | 2,0 ± 0,4 | 7,4 ± 2,6 |
| | 20-40 | 44 ± 21 | 106 ± 10 | 2,0 ± 0,2 | 4,1 ± 1,8 |
| | Media | 52 ± 22 | 106 ± 9 | 2,0 ± 0,3 | 5,8 ± 2,7 |
| | | a | ab | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m² (5%) + solarización | 0-20 | 126 ± 13 | 130 ± 10 | 3,3 ± 0,8 | 7,7 ± 1,1 |
| | 20-40 | 35 ± 7 | 120 ± 6 | 1,9 ± 0,1 | 4,1 ± 2,8 |
| | Media | 80 ± 50 | 125 ± 9 | 2,6 ± 1,0 | 5,9 ± 2,1 |
| | | a | b | a | a |
| Significación Asintótica | | 0,332 | 0,015 | 0,405 | 0,840 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.114, se recogen los resultados de los micronutrientes obtenidos después del cultivo de acelgas de la campaña 2007/2008. Sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los valores de Mn entre las vinazas de remolacha combinadas con solarización y el testigo. Estas diferencias ya se observaban después de aplicar los biodesinfectantes (Tabla 4.111). Cabe destacar que este año después del cultivo de acelgas no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el Fe y Cu, aunque **los valores en el tratamiento con vinazas de remolacha combinadas con solarización son más elevados que en el resto de tratamientos.**

Después del cultivo invernal de acelgas se realizó un nuevo cultivo de tomate cv “Daniela”, igual que en las campañas anteriores. Cuando concluyó el cultivo, se realizó una nueva toma de muestras para seguir la evolución de los parámetros químicos estudiados en el tiempo y ver cuál fue la influencia de la reiteración de los tratamientos. Los resultados obtenidos se recogen en las Tablas 4.115-117.

Tabla 4.115. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de tomate (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH | CE mS/cm ^(**) |
|--|------------------|------------------------|------------------------|-------------|--------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,84 ± 0,07 | 10,66 ± 0,38 | 7,57 ± 0,08 | 0,26 ± 0,14 |
| | 20-40 | 1,05 ± 0,23 | 6,08 ± 1,36 | 6,76 ± 0,32 | 0,14 ± 0,02 |
| | Media | 1,44 ± 0,45 | 8,37 ± 2,62 | 7,17 ± 0,48 | 0,20 ± 0,11 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 1,77 ± 0,59 | 10,29 ± 3,41 | 7,61 ± 0,09 | 0,29 ± 0,14 |
| | 20-40 | 0,96 ± 0,06 | 5,58 ± 0,33 | 6,80 ± 0,45 | 0,16 ± 0,03 |
| | Media | 1,37 ± 0,58 | 7,94 ± 3,37 | 7,20 ± 0,53 | 0,22 ± 0,12 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 1,75 ± 0,10 | 10,16 ± 0,59 | 7,67 ± 0,13 | 0,22 ± 0,06 |
| | 20-40 | 0,96 ± 0,22 | 5,58 ± 1,26 | 7,33 ± 0,10 | 0,16 ± 0,02 |
| | Media | 1,36 ± 0,45 | 7,87 ± 2,61 | 7,50 ± 0,21 | 0,19 ± 0,05 |
| | | a | a | a | a |
| Significación asintótica | | 0,806 | 0,806 | 0,172 | 0,600 |

^(*) Diferencias estadísticamente significativas en la profundidad. ^(**) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En la Tabla 4.115, se recogen los resultados de los análisis de MO, C_{orgánico}, pH y CE obtenidos después del cultivo de tomates de la campaña 2007/2008. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de estos parámetros, observándose incluso, que después de este último cultivo los valores de CE estaban muy próximos a los obtenidos en el testigo, aunque se haya venido observando durante toda la duración del experimento, que los valores fueron más elevados en los tratamientos con vinazas de remolacha. Por otro lado en la Tabla 4.116, se recogen los valores de macroelementos. Se observó tras el análisis que sólo aparecen diferencias estadísticamente significativas para los valores de K⁺ asimilables, diferenciando claramente a los tratamientos con vinazas de remolacha del testigo. Al igual que ocurrió con la CE, se observó que los valores de Na⁺ asimilable eran similares a los del testigo, a pesar de que durante todo el ensayo hayan sido superiores en los tratamientos con vinazas de remolacha. Para los resultados obtenidos en micronutrientes no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para ninguno de los parámetros estudiados. Al igual que ocurría con el análisis realizado después del cultivo de acelgas de esta campaña, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para **los valores de Fe asimilable**, que se habían observado después de realizar el tratamiento esta campaña, aún así los **valores fueron mayores en el tratamiento con vinazas de remolacha cubierto con plástico**, seguidos por el que no estuvo cubierto con plástico. Para el resto de **micronutrientes Mn, Cu y Zn, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas, siendo los valores mayores en el tratamiento con vinazas de remolacha cubierto con plástico**, seguido por el tratamiento que no estuvo cubierto con plástico y por último por el testigo al que no se le aportó ningún

nutriente extra a la hora de realizar los tratamientos de biodesinfección, puesto que los que pueda aportar el agua de riego también fueron los mismos que para el resto de tratamientos, en los cuales se incorporaron vinazas de remolacha en el suelo.

Tabla 4.116. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de tomate (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} ^(**) | P ₂ O ₅ ^(**) | K ⁺ | Ca ²⁺ ^(**) | Mg ²⁺ | Na ⁺ ^(**) |
|---|------------------|------------------------------------|---|----------------|----------------------------------|------------------|---------------------------------|
| Testigo | 0-20 | 1,34 ± 0,04 | 1,71 ± 0,14 | 0,30 ± 0,07 | 2,53 ± 0,08 | 0,44 ± 0,03 | 0,08 ± 0,03 |
| | 20-40 | 0,82 ± 0,17 | 0,88 ± 0,27 | 0,36 ± 0,07 | 1,48 ± 0,20 | 0,31 ± 0,02 | 0,04 ± 0,00 |
| | Media | 1,08 ± 0,30 | 1,29 ± 0,49 | 0,33 ± 0,08 | 2,00 ± 0,58 | 0,38 ± 0,07 | 0,06 ± 0,03 |
| | | a | a | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 1,45 ± 0,13 | 1,79 ± 0,28 | 0,43 ± 0,09 | 2,21 ± 0,21 | 0,45 ± 0,03 | 0,07 ± 0,02 |
| | 20-40 | 0,78 ± 0,01 | 0,70 ± 0,07 | 0,45 ± 0,05 | 1,34 ± 0,14 | 0,31 ± 0,03 | 0,06 ± 0,02 |
| | Media | 1,12 ± 0,37 | 1,24 ± 0,61 | 0,44 ± 0,07 | 1,77 ± 0,50 | 0,38 ± 0,08 | 0,07 ± 0,02 |
| | | a | a | b | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 1,38 ± 0,09 | 1,74 ± 0,15 | 0,31 ± 0,21 | 1,95 ± 0,25 | 0,44 ± 0,04 | 0,06 ± 0,01 |
| | 20-40 | 0,77 ± 0,09 | 0,73 ± 0,18 | 0,60 ± 0,10 | 1,81 ± 0,07 | 0,39 ± 0,01 | 0,07 ± 0,02 |
| | Media | 1,07 ± 0,33 | 1,23 ± 0,56 | 0,46 ± 0,22 | 1,88 ± 0,18 | 0,42 ± 0,03 | 0,07 ± 0,02 |
| | | a | a | b | a | a | a |
| Significación Asintótica | | 0,793 | 0,751 | 0,006 | 1,000 | 0,462 | 0,248 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Tabla 4.117. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el túnel de Marchamalo (Guadalajara) después del cultivo de tomate (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe ^(**) | Mn ^(**) | Cu | Zn ^(**) |
|---|------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------------------|
| Testigo | 0-20 | 43 ± 7 | 102 ± 13 | 1,9 ± 0,4 | 8,7 ± 1,1 |
| | 20-40 | 37 ± 8 | 118 ± 5 | 2,4 ± 0,6 | 5,2 ± 1,4 |
| | Media | 40 ± 7 | 110 ± 12 | 2,1 ± 0,6 | 7,0 ± 2,2 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) | 0-20 | 54 ± 10 | 113 ± 10 | 2,0 ± 0,1 | 8,7 ± 1,4 |
| | 20-40 | 31,58 ± 4 | 117 ± 11 | 2,0 ± 0,2 | 4,3 ± 0,4 |
| | Media | 42,61 ± 13 | 115 ± 10 | 2,0 ± 0,1 | 6,5 ± 2,5 |
| | | a | a | a | a |
| Vin. remolacha 1,5 l/m ² (5%) + solarización | 0-20 | 103 ± 11 | 120 ± 5 | 2,7 ± 0,3 | 9,2 ± 1,2 |
| | 20-40 | 45 ± 19 | 117 ± 17 | 1,9 ± 0,5 | 4,2 ± 0,4 |
| | Media | 74 ± 34 | 119 ± 12 | 2,3 ± 0,6 | 6,7 ± 2,8 |
| | | a | a | a | a |
| Significación Asintótica | | 0,059 | 0,208 | 0,529 | 1,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

De los resultados de este experimento se puede concluir que las vinazas de remolacha aportan principalmente al suelo K⁺, Na⁺, Fe, Mn y Cu, observándose su aporte principalmente después de su aplicación y no tanto después de realizar los cultivos. A la

conclusión del experimento, después de tres años de continuidad para el tratamiento con vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m², de dos para el testigo y el tratamiento de vinazas de remolacha a la dosis de 1,5 l/m² sin cubrir con plástico, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para **los valores de Mn, aunque se observó que los demás parámetros aumentaban en los tratamientos con vinazas de remolacha. Cabe destacar que no se encontraron grandes incrementos en el Na⁺ asimilable, que podría parecer un factor limitante para la utilización de las vinazas de remolacha.**

4.4.3.2. Influencia de la biodesinfección con estiércol de ovino y vinazas de remolacha y vino en el invernadero CH de la finca experimental de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia)

Características de las parcelas antes de realizar los tratamientos de la campaña 2007/2008. En el invernadero CH de la finca Torre Blanca se vienen estudiando, desde la campaña 2001/2002, diversas alternativas no químicas de desinfección de suelos al BM, principalmente solarización (sin aporte de enmienda orgánica) y biodesinfección combinada con solarización, utilizando estiércoles de origen animal, que aportan al suelo materia orgánica y nutrientes. Una vez terminado el cultivo de pimiento anterior y después de labrar el suelo con una labor de subsolador y otra de fresadora se realizó una toma de muestras de suelo para determinar el nivel de fertilidad relacionada con los parámetros estudiados. En las Tablas 4.118-120 se recogen los resultados obtenidos antes de realizar los tratamientos de biodesinfección de la campaña objeto de estudio. Se observaron diferencias entre los tratamientos de la campaña precedente en los niveles de CE, K⁺, Ca²⁺, Na⁺, Fe, Mn, Cu y Zn, confirmadas mediante el análisis de la varianza ANOVA DMS y las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis (Tablas 4.118-124). Estas diferencias se deben fundamentalmente a la reiteración desde la campaña 2001/2002 de los tratamientos de BM, solarización y biodesinfección con estiércol fresco de ovino sobre las mismas parcelas. Sólo se observaron diferencias entre los tratamientos en **los valores de la CE, siendo mayor al final del cultivo en los suelos donde se viene aplicando BM.** Para el resto de los parámetros estudiados no se observaron diferencias al realizar los análisis estadísticos de los datos. Cabe destacar que, aunque en el tratamiento de biodesinfección se incorporase estiércol fresco de ovino, no se observaron diferencias entre los tratamientos en los valores de MO (%), a pesar de que mediante las pruebas post-hoc de Duncan del análisis de la varianza, se observasen diferencias entre los distintos tratamientos mostrándonos la tendencia a lo largo del tiempo. El tratamiento de biodesinfección con estiércol fresco de ovino presentó diferencias con el tratamiento de BM, mientras que la solarización se

encontraba en un grupo común a ambos, siendo el tratamiento de biodesinfección el que registró los niveles más altos en materia orgánica, seguido por la solarización y por el BM respectivamente. Por otra parte las mayores diferencias se encontraron a la profundidad entre 0-20 cm que es donde se incorpora el biodesinfectante en el suelo (Tabla 118).

Tabla 4.118. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) antes de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2007/2008).

| Tratamiento campaña 2006/2007 | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH ^(**) | CE mS/cm ^(**) |
|--|------------------|------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m ² + plástico VIF | 0-20 | 1,93 ± 0,07 | 11,20 ± 0,40 | 7,91 ± 0,10 | 2,41 ± 0,45 |
| | 20-40 | 1,64 ± 0,20 | 9,53 ± 1,20 | 8,07 ± 0,14 | 1,50 ± 0,14 |
| | Media | 1,79 ± 0,21 | 10,37 ± 1,21 | 7,99 ± 0,14 | 1,95 ± 0,58 |
| | | a | a | a | b |
| Solarización | 0-20 | 2,16 ± 0,45 | 12,51 ± 2,60 | 7,84 ± 0,08 | 1,55 ± 0,19 |
| | 20-40 | 1,81 ± 0,25 | 10,51 ± 1,43 | 8,06 ± 0,07 | 0,93 ± 0,18 |
| | Media | 1,99 ± 0,39 | 11,51 ± 2,27 | 7,95 ± 0,13 | 1,24 ± 0,36 |
| | | a | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino (EFO) 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 2,51 ± 0,36 | 14,58 ± 2,11 | 7,91 ± 0,09 | 1,39 ± 0,27 |
| | 20-40 | 1,86 ± 0,38 | 10,58 ± 1,80 | 8,04 ± 0,08 | 0,92 ± 0,11 |
| | Media | 2,18 ± 0,49 | 12,58 ± 2,80 | 7,97 ± 0,10 | 1,15 ± 0,31 |
| | | a | a | a | a |
| Significación | | 0,760 | 0,780 | 0,578 | 0,000 |
| F | | 2,831 | 2,792 | 0,559 | 28,869 |
| Levene (homocedasticidad) | | 0,083 | 0,058 | 0,53 | 0,063 |
| R cuadrado | | 0,436 | 0,462 | 0,571 | 0,82 |
| Significación Asintótica | | 0,284 | 0,312 | 0,882 | 0,011 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.119, se recogen los resultados obtenidos del análisis de macroelementos antes de realizar los tratamientos de biodesinfección en la campaña 2007/2008. Sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en los valores de K⁺ y Na⁺ asimilable. Con respecto al K⁺ se observaron diferencias entre los tres tratamientos, presentando el tratamiento de biodesinfección combinada con solarización los valores más elevados, seguido por la solarización y por último el BM. Entre los cationes que aportan mayor estabilidad a la estructura del suelo se observó que la mayor concentración de Ca²⁺ y Na⁺ asimilables se dieron en el tratamiento de BM, encontrándose diferencias entre este tratamiento con los otros dos para ambos elementos.

Tabla 4.119. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) antes de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento campaña 2006/2007 | Profundidad (cm) | N _{total} ^(**) | P ₂ O ₅ ^(*) | K ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ ^(**) | Na ⁺ ^(**) |
|---|------------------|------------------------------------|--|----------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Bromuro de metilo 98:2 30 g/m ² + plástico VIF | 0-20 | 1,20 ± 0,08 | 0,78 ± 0,05 | 0,49 ± 0,04 | 6,14 ± 0,28 | 0,60 ± 0,04 | 0,61 ± 0,04 |
| | 20-40 | 0,98 ± 0,24 | 0,54 ± 0,04 | 0,33 ± 0,05 | 6,04 ± 0,15 | 0,52 ± 0,03 | 0,46 ± 0,03 |
| | Media | 1,09 ± 0,20 | 0,66 ± 0,14 | 0,41 ± 0,09 | 6,09 ± 0,21 | 0,56 ± 0,05 | 0,53 ± 0,09 |
| | | a | a | a | b | a | b |
| Solarización | 0-20 | 1,27 ± 0,18 | 0,84 ± 0,08 | 0,60 ± 0,13 | 5,56 ± 0,46 | 0,56 ± 0,09 | 0,41 ± 0,08 |
| | 20-40 | 1,07 ± 0,23 | 0,63 ± 0,11 | 0,57 ± 0,10 | 5,75 ± 0,21 | 0,52 ± 0,02 | 0,32 ± 0,03 |
| | Media | 1,17 ± 0,22 | 0,74 ± 0,14 | 0,58 ± 0,11 | 5,66 ± 0,36 | 0,54 ± 0,07 | 0,36 ± 0,08 |
| | | a | a | b | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,47 ± 0,19 | 0,85 ± 0,09 | 0,74 ± 0,10 | 5,47 ± 0,25 | 0,58 ± 0,06 | 0,40 ± 0,04 |
| | 20-40 | 1,10 ± 0,30 | 0,62 ± 0,08 | 0,68 ± 0,09 | 5,68 ± 0,16 | 0,55 ± 0,04 | 0,35 ± 0,03 |
| | Media | 1,28 ± 0,31 | 0,74 ± 0,14 | 0,71 ± 0,09 | 5,58 ± 0,23 | 0,56 ± 0,05 | 0,38 ± 0,04 |
| | | a | a | c | a | a | a |
| F | | 0,188 | 0,155 | 0,000 | 0,005 | 0,501 | 0,000 |
| Significación | | 1,776 | 1,994 | 18,485 | 6,318 | 0,709 | 27,45 |
| Levene (homocedasticidad) | | 0,542 | 0,455 | 0,313 | 0,327 | 0,209 | 0,285 |
| R cuadrado | | 0,378 | 0,687 | 0,6 | 0,364 | 0,208 | 0,756 |
| Significación Asintótica* | | 0,241 | 0,487 | 0,000 | 0,006 | 0,482 | 0,002 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.120 se recogen los resultados de los análisis de microelementos obtenidos de muestras tomadas antes de realizar los tratamientos de la campaña 2007/2008. Se observaron diferencias entre tratamientos en todos los microelementos. El Fe asimilable presentó un comportamiento similar que el K⁺ (Tabla 4.119), diferenciándose tres grupos, siendo el tratamiento de biodesinfección con estiércol fresco de ovino combinado con solarización el que mayores valores presentó, seguido por la solarización y el BM. Tales diferencias estarían relacionadas con los aportes en estos nutrientes en el estiércol y en los aportes minerales a lo largo del cultivo precedente, a lo que se debería añadir el efecto de la temperatura al cubrir las parcelas con plástico, que hizo que aumentase su concentración asimilable, puesto que en el tratamiento de solarización, en el que sólo se incorporó agua durante el proceso de desinfección, también aumentaron. Este mismo comportamiento también se observó con respecto al Mn y al Cu aunque no se encontrasen diferencias significativas entre los tres tratamientos, pero sí entre la biodesinfección combinada con solarización y los otros dos tratamientos. Al analizar el Zn se observó un comportamiento similar, encontrándose diferencias entre los tratamientos de solarización y de biodesinfección con respecto al BM, pudiendo existir también influencia de la temperatura. Además, para los valores MO (%), C_{orgánico}, pH, CE, N_{total}, P₂O₅, K⁺, Mg²⁺ y Na⁺ se encontraron diferencias en todos los

tratamientos entre las profundidades entre 0-20 cm y 20-40 cm (Tablas 4.118 y 120), probablemente derivadas de las propias prácticas de cultivo, orientadas a facilitar la actividad radicular en el primer nivel de profundidad.

Tabla 4.120. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) antes de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento campaña 2006/2007 | Profundidad (cm) | Fe | Mn | Cu | Zn |
|---|------------------|----------------------------|-------------|----------------|----------------|
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m ² + plástico VIF | 0-20 | 20 ± 5 | 43 ± 8 | 2,5 ± 0,3 | 6,6 ± 1,5 |
| | 20-40 | 21 ± 1 | 45 ± 5 | 2,7 ± 0,1 | 6,9 ± 0,5 |
| | Media | 20 ± 3 a ^(*) | 44 ± 7 a | 2,6 ± 0,2 a | 6,7 ± 1,0 a |
| Solarización | 0-20 | 38 ± 14 | 50 ± 9 | 3,0 ± 0,5 | 8,4 ± 1,7 |
| | 20-40 | 34 ± 10 | 49 ± 9 | 2,9 ± 0,5 | 7,8 ± 1,8 |
| | Media | 36 ± 12 b | 49 ± 9 a | 2,9 ± 0,5 a | 8,1 ± 1,8 b |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 73 ± 13 | 61 ± 2 | 3,9 ± 0,3 | 9,9 ± 1,1 |
| | 20-40 | 60 ± 8 | 63 ± 8 | 3,7 ± 0,3 | 8,9 ± 0,8 |
| | Media | 66 ± 12 c | 62 ± 6 b | 3,8 ± 0,3 b | 9,4 ± 1,1 b |
| F | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,003 |
| Significación | | 45,347 | 13,566 | 22,22 | 7,226 |
| Levene (homocedasticidad) | | 0,202 | 0,301 | 0,271 | 0,255 |
| R cuadrado | | 0,774 | 0,494 | 0,621 | 0,374 |
| Significación Asintótica* | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,002 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Para poder comparar mejor como influyeron los distintos tratamientos que se realizaron en la campaña 2007/2008, se ha realizado un análisis estadístico, mediante pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, a las parcelas en función de su futuro tratamiento. Los resultados recogidos en las Tablas 4.121-123, pusieron de manifiesto que el suelo donde se asentará el ensayo de la campaña 2007-08 no era uniforme para algunos de los parámetros medidos. Así, la CE de las parcelas del BM fue diferente a la de las destinadas a ser desinfectadas con vinaza de remolacha, sola o con estiércol fresco de ovino (Tabla 4.121), pero no de los otros dos tratamientos, no existiendo diferencias entre las parcelas destinadas a ser desinfectadas por medios no químicos.

Tabla 4.121. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) antes de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH ^(**) | CE mS/cm ^(**) |
|---|------------------|------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m² + plástico VIF | 0-20 | 1,93 ± 0,07 | 11,20 ± 0,40 | 7,91 ± 0,10 | 2,41 ± 0,45 |
| | 20-40 | 1,64 ± 0,20 | 9,53 ± 1,20 | 8,07 ± 0,14 | 1,50 ± 0,14 |
| | Media | 1,79 ± 0,21 | 10,37 ± 1,21 | 7,99 ± 0,14 | 1,95 ± 0,58 |
| | | a | a | a | b |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 1,99 ± 0,46 | 11,55 ± 2,66 | 7,82 ± 0,08 | 1,50 ± 0,16 |
| | 20-40 | 1,76 ± 0,24 | 10,20 ± 1,37 | 8,05 ± 0,05 | 0,91 ± 0,25 |
| | Media | 1,88 ± 0,36 | 10,88 ± 2,09 | 7,94 ± 0,14 | 1,20 ± 0,37 |
| | | a | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 2,28 ± 0,12 | 13,23 ± 0,71 | 7,87 ± 0,06 | 1,24 ± 0,11 |
| | 20-40 | 1,79 ± 0,18 | 10,40 ± 1,04 | 8,02 ± 0,07 | 0,90 ± 0,09 |
| | Media | 2,04 ± 0,30 | 11,82 ± 1,74 | 7,95 ± 0,11 | 1,07 ± 0,20 |
| | | a | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m² + solarización | 0-20 | 2,74 ± 0,39 | 15,93 ± 2,27 | 7,95 ± 0,10 | 1,54 ± 0,33 |
| | 20-40 | 1,92 ± 0,57 | 10,77 ± 2,63 | 8,05 ± 0,11 | 0,94 ± 0,14 |
| | Media | 2,33 ± 0,63 | 13,35 ± 3,58 | 8,0 ± 0,10 | 1,24 ± 0,40 |
| | | a | a | a | ab |
| Vinaza de vino 4 kg/m² + solarización | 0-20 | 2,33 ± 0,43 | 13,48 ± 2,49 | 7,87 ± 0,08 | 1,60 ± 0,23 |
| | 20-40 | 1,87 ± 0,28 | 10,83 ± 1,63 | 8,07 ± 0,10 | 0,96 ± 0,08 |
| | Media | 2,10 ± 0,41 | 12,15 ± 2,41 | 7,97 ± 0,13 | 1,28 ± 0,38 |
| | | a | a | a | ab |
| Significación Asintótica* | | 0,339 | 0,380 | 0,888 | 0,049 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Una situación similar a la de la CE se presentó para el Na⁺, no encontrándose diferencias entre parcelas en los niveles de N_{total}, P₂O₅ y Mg (Tabla 4.122). Las diferencias en los niveles de K⁺ y Ca²⁺, no guardan relación con ninguno de los elementos anteriores, estableciéndose grupos de significación no relacionados; así, el nivel medio de Ca²⁺ en el BM sólo fue diferente de la biodesinfección + solarización con estiércol fresco de ovino, no encontrándose diferencias entre los otros tratamientos. En el caso del K⁺, el nivel en las parcelas destinadas a BM no era distinto del de las destinadas a la biodesinfección + solarización con vinazas de remolacha, pero si de los de las parcelas a desinfectar con los otros tratamientos, no encontrándose diferencias entre parcelas a desinfectar por medios no químicos. El K⁺ asimilable, que anteriormente (Tabla 4.118) quedaba definido en tres grupos claramente diferenciados en función de los tres tipos de tratamientos, ahora quedó definido en dos, el grupo del BM, que presentaba los valores inferiores, y el grupo formado por el resto de tratamientos que incorporaron biodesinfectantes, estiércol fresco de ovino, estiércol fresco de ovino + vinazas de remolacha a mitad de dosis ambos y vinazas de vino, con los valores más

elevados, quedando el tratamiento con vinazas de remolacha en un grupo intermedio de los dos. El Ca^{2+} asimilable también presentó variaciones con respecto al análisis anterior, diferenciando dos grupos, el de las parcelas del tratamiento con estiércol fresco de ovino, que presentaban los valores más bajos y el tratamiento con BM, con los más elevados, siendo el resto de tratamientos comunes a ambos grupos.

Tabla 4.122. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) antes de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N _{total} ^(**) | P ₂ O ₅ ^(**) | K ⁺ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ ^(**) | Na ⁺ ^(**) |
|---|------------------|------------------------------------|---|----------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m² + plástico VIF | 0-20 | 1,20 ± 0,08 | 0,78 ± 0,05 | 0,49 ± 0,04 | 6,14 ± 0,28 | 0,60 ± 0,04 | 0,61 ± 0,04 |
| | 20-40 | 0,98 ± 0,24 | 0,54 ± 0,04 | 0,33 ± 0,05 | 6,04 ± 0,15 | 0,52 ± 0,03 | 0,46 ± 0,03 |
| | Media | 1,09 ± 0,20 | 0,66 ± 0,14 | 0,41 ± 0,09 | 6,09 ± 0,21 | 0,56 ± 0,05 | 0,53 ± 0,09 |
| | | a | a | a | b | a | b |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 1,23 ± 0,17 | 0,84 ± 0,07 | 0,55 ± 0,15 | 5,35 ± 0,54 | 0,52 ± 0,11 | 0,36 ± 0,09 |
| | 20-40 | 1,01 ± 0,27 | 0,67 ± 0,09 | 0,55 ± 0,11 | 5,73 ± 0,24 | 0,52 ± 0,03 | 0,31 ± 0,03 |
| | Media | 1,12 ± 0,24 | 0,75 ± 0,12 | 0,55 ± 0,13 | 5,54 ± 0,44 | 0,52 ± 0,07 | 0,34 ± 0,07 |
| | | a | a | ab | ab | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 1,33 ± 0,02 | 0,83 ± 0,06 | 0,68 ± 0,02 | 5,37 ± 0,10 | 0,57 ± 0,02 | 0,38 ± 0,01 |
| | 20-40 | 1,14 ± 0,15 | 0,65 ± 0,06 | 0,66 ± 0,10 | 5,62 ± 0,09 | 0,54 ± 0,01 | 0,37 ± 0,01 |
| | Media | 1,24 ± 0,14 | 0,74 ± 0,11 | 0,67 ± 0,06 | 5,50 ± 0,16 | 0,55 ± 0,02 | 0,37 ± 0,01 |
| | | a | a | b | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m² + solarización | 0-20 | 1,61 ± 0,20 | 0,88 ± 0,12 | 0,80 ± 0,11 | 5,56 ± 0,35 | 0,59 ± 0,09 | 0,42 ± 0,06 |
| | 20-40 | 1,05 ± 0,43 | 0,60 ± 0,10 | 0,70 ± 0,09 | 5,75 ± 0,21 | 0,55 ± 0,06 | 0,34 ± 0,03 |
| | Media | 1,33 ± 0,43 | 0,74 ± 0,18 | 0,75 ± 0,10 | 5,66 ± 0,28 | 0,57 ± 0,07 | 0,38 ± 0,06 |
| | | a | a | b | ab | a | ab |
| Vinaza de vino 4 kg/m² + solarización | 0-20 cm | 1,31 ± 0,20 | 0,85 ± 0,10 | 0,66 ± 0,08 | 5,77 ± 0,30 | 0,59 ± 0,06 | 0,46 ± 0,04 |
| | 20-40 cm | 1,14 ± 0,20 | 0,60 ± 0,13 | 0,58 ± 0,09 | 5,77 ± 0,20 | 0,51 ± 0,02 | 0,33 ± 0,04 |
| | Media | 1,22 ± 0,20 | 0,72 ± 0,17 | 0,62 ± 0,09 | 5,77 ± 0,23 | 0,55 ± 0,06 | 0,39 ± 0,08 |
| | | a | a | b | ab | a | ab |
| Significación Asintótica* | | 0,368 | 0,820 | 0,001 | 0,014 | 0,707 | 0,006 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.123, se recogen los resultados de los análisis en macroelementos obtenidos antes de que se realice el tratamiento. El Fe que antes presentaba tres grupos claramente diferenciados en función de los tres tipos de tratamiento (Tabla 4.119), ahora tuvo bien definidos dos grupos, un grupo que incluyó las parcelas cuyo tratamiento será el BM junto con las que fueron utilizadas para experimentar con las vinazas de vino y de remolacha solas, es decir aquellas que tenían como tratamiento la solarización, mientras que en el otro grupo se encontraban las parcelas que fueron utilizadas para los tratamientos con estiércol y sea solo o combinado con vinazas de remolacha. En este caso las diferencias se encontraron

entre las parcelas que el año anterior tuvieron estiércol con aquellas que no tuvieron estiércol. Aun así se observó que los valores en las parcelas que tuvieron solarización el año anterior presentan valores más elevados. Lo mismo ocurrió para los **contenidos en Mn, Cu y Zn, donde las parcelas que el año anterior tuvieron estiércol presentan un contenido mayor que el resto**, observándose que para el Zn las parcelas que el año anterior tuvieron solarización y que este año llevaron los tratamientos de vinazas solas estaban en grupos comunes al BM y a las que llevan estiércol, debido al efecto de la temperatura.

Tabla 4.123. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) antes de realizar los tratamientos de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe | Mn | Cu | Zn |
|---|------------------|---------|---------|-----------|------------|
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m² + plástico VIF | 0-20 | 20 ± 5 | 43 ± 9 | 2,5 ± 0,3 | 6,6 ± 1,5 |
| | 20-40 | 21 ± 1 | 45 ± 5 | 2,7 ± 0,1 | 6,9 ± 0,5 |
| | Media | 21 ± 3 | 44 ± 7 | 2,6 ± 0,2 | 6,7 ± 1,0 |
| | | a | a | a | a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 42 ± 13 | 53 ± 6 | 3,1 ± 0,4 | 8,8 ± 1,33 |
| | 20-40 | 35 ± 12 | 48 ± 13 | 2,9 ± 0,7 | 7,5 ± 2,37 |
| | Media | 38 ± 12 | 50 ± 10 | 3,0 ± 0,6 | 8,1 ± 1,89 |
| | | a | a | a | ab |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 66 ± 13 | 60 ± 2 | 3,8 ± 0,3 | 9,4 ± 1,0 |
| | 20-40 | 56 ± 5 | 63 ± 8 | 3,7 ± 0,4 | 8,9 ± 0,7 |
| | Media | 61 ± 10 | 62 ± 6 | 3,8 ± 0,3 | 9,2 ± 0,8 |
| | | b | b | b | b |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m² + solarización | 0-20 | 80 ± 9 | 62 ± 1 | 4,0 ± 0,3 | 10,4 ± 1,2 |
| | 20-40 | 64 ± 10 | 63 ± 10 | 3,6 ± 0,3 | 8,9 ± 1,2 |
| | Media | 72 ± 13 | 62 ± 6 | 3,8 ± 0,3 | 9,6 ± 1,3 |
| | | b | b | b | b |
| Vinaza de vino 4 kg/m² + solarización | 0-20 | 33 ± 15 | 46 ± 10 | 2,8 ± 0,7 | 8,1 ± 2,2 |
| | 20-40 | 32 ± 9 | 51 ± 4 | 2,9 ± 0,3 | 8,1 ± 1,4 |
| | Media | 33 ± 11 | 48 ± 8 | 2,9 ± 0,5 | 8,1 ± 1,7 |
| | | a | a | a | ab |
| Significación Asintótica | | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,014 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Como conclusión, **puede observarse que la repetición de los mismos tratamientos desde la campaña 2001/2002 al final del cultivo de la campaña 2006/2007 influyó sobre todo en el contenido de algunos macroelementos como el K⁺ y sobre todo en el contenido en micronutrientes como Fe, Mn, Cu y Zn, no afectando de manera significativa a otros parámetros químicos del suelo como la MO (%), C_{orgánico}, pH, N_{total}, P₂O₅. Se observó sin embargo que la acumulación de cationes asimilables fue mayor en el tratamiento con**

BM, debido a que en estas parcelas nunca se incorporó estiércol y el contenido en cationes fue mayor en superficie.

Efecto de la desinfección sobre las características químicas del suelo. A continuación se realizaron los tratamientos, y como se explicó anteriormente los tratamientos con biodesinfectantes de origen orgánico se incorporaron en agosto mientras que el tratamiento con BM en diciembre. Por ello, una vez que se dio por concluido el periodo de biodesinfección del suelo se realizó una toma de muestras de suelo a principios de noviembre, utilizándose las parcelas de BM como un testigo blanco en el que hasta el momento no se ha realizado ningún tratamiento. Posteriormente se desinfectó el suelo con BM en el mes de diciembre en las parcelas correspondientes y a los cuatro días se realizó un muestreo sólo en estas parcelas, dándose por válidos los muestreos anteriores. Este año los tratamientos realizados, combinaron la solarización con la incorporación al suelo de biodesinfectantes de suelo de origen orgánico, ya sean sólidos como el estiércol fresco de ovino o líquidos como las vinazas de remolacha y de vino. A pesar de que la toma de las muestras de suelo de las cuales se realizó el análisis de nematodos y de la fertilidad se tomaron antes de que se regasen las parcelas, que pudo provocar lixiviación, sobre todo de los cationes móviles como pueden ser el Na^+ y K^+ , se encontraron diferencias en los tratamientos, debiendo además tener en cuenta que el riego forma parte de la técnica de biodesinfección de suelo. Se presentan en las Tablas 4.124-126 los valores obtenidos en los análisis realizados antes de que se aplicase el BM pero después de dar por concluido el periodo de biodesinfección con materiales orgánicos y los resultados obtenidos después de aplicar el BM. Se observó que los cambios producidos en el testigo antes de que se realizase el tratamiento con BM y después de que transcurriese el tiempo de biodesinfección de suelos fueron prácticamente nulos, por ello se presentan en las mismas tablas, con los parámetros estadísticos correspondientes y etiquetados con las leyendas “antes de aplicar BM” y “después de aplicar BM”. En las Tablas 4.124-126 se recogen los resultados obtenidos.

En la Tabla 4.124 se recogen los valores de los análisis de MO (%), $C_{\text{orgánico}}$, pH y CE obtenidos después de haber realizado los distintos tratamientos. Se observaron diferencias entre los valores de pH y CE de los distintos tratamientos. Con respecto al pH se observó que los biodesinfectantes utilizados causaron descensos en el pH, salvo el tratamiento con vinazas de vino que fue el que presentó las diferencias con los demás. Para la CE se observaron valores similares a los del análisis anterior (Tabla 4.121), produciéndose un descenso en el tratamiento con vinazas de vino, mientras que se observó que después de aplicar el BM la CE aumenta. Para este caso el tratamiento con vinazas de remolacha presentó diferencias con el tratamiento con vinazas de vino, quedándose los tratamientos con estiércol, en una situación

intermedia. Por otro lado se observó un incremento en MO a la profundidad entre 0-20 cm para todos los tratamientos con respecto al análisis realizado antes de realizar la biodesinfección, excepto para el tratamiento con vinazas de vino donde disminuyó, aunque no se observasen diferencias significativas.

Tabla 4.124. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) después de finalizar el periodo de biodesinfección (Campaña 2007/2008). (*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) ^(**) | C g/kg ^(**) | pH | CE mS/cm ^(**) |
|--|------------------|------------------------|------------------------|-------------|--------------------------|
| Testigo (BM) | 0-20 | 1,93 ± 0,06 | 11,20 ± 0,36 | 7,92 ± 0,10 | 2,11 ± 0,09 |
| | 20-40 | 1,59 ± 0,19 | 9,20 ± 1,05 | 7,98 ± 0,11 | 1,04 ± 0,12 |
| | Media | 1,76 ± 0,23 | 10,20 ± 1,30 | 7,95 ± 0,10 | 1,58 ± 0,60 |
| | | a | a | ab | b |
| Bromuro de metilo 98:2 a 30 gr/m ² + plástico VIF | 0-20 | 2,01 ± 0,11 | 11,7 ± 0,62 | 7,97 ± 0,12 | 2,70 ± 0,31 |
| | 20-40 | 1,66 ± 0,22 | 9,63 ± 1,31 | 7,86 ± 0,07 | 1,41 ± 0,41 |
| | Media | 1,84 ± 0,25 | 10,67 ± 1,46 | 7,91 ± 0,11 | 2,05 ± 0,78 |
| | | a | a | ab | b |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 2,23 ± 0,42 | 12,93 ± 2,48 | 7,79 ± 0,09 | 1,48 ± 0,44 |
| | 20-40 | 1,72 ± 0,26 | 10,0 ± 1,47 | 7,87 ± 0,04 | 1,27 ± 0,22 |
| | Media | 1,97 ± 0,42 | 11,46 ± 2,45 | 7,83 ± 0,08 | 1,38 ± 0,34 |
| | | a | a | a | b |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 3,13 ± 0,42 | 18,17 ± 2,47 | 7,98 ± 0,06 | 1,30 ± 0,15 |
| | 20-40 | 1,93 ± 0,39 | 11,20 ± 2,33 | 7,92 ± 0,13 | 0,84 ± 0,12 |
| | Media | 2,53 ± 0,75 | 14,68 ± 4,38 | 7,95 ± 0,10 | 1,07 ± 0,28 |
| | | a | a | ab | ab |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² + solarización | 0-20 | 3,02 ± 0,27 | 17,57 ± 1,56 | 7,89 ± 0,15 | 1,19 ± 0,15 |
| | 20-40 | 2,00 ± 0,13 | 11,63 ± 0,71 | 7,98 ± 0,02 | 0,70 ± 0,11 |
| | Media | 2,51 ± 0,59 | 14,60 ± 3,43 | 7,94 ± 0,10 | 0,95 ± 0,29 |
| | | a | a | ab | ab |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 0-20 | 2,24 ± 0,29 | 13,03 ± 1,69 | 7,98 ± 0,07 | 0,98 ± 0,09 |
| | 20-40 | 1,80 ± 0,24 | 10,45 ± 1,40 | 7,94 ± 0,05 | 0,75 ± 0,06 |
| | Media | 2,02 ± 0,34 | 11,74 ± 1,99 | 7,96 ± 0,06 | 0,86 ± 0,14 |
| | | a | a | b | a |
| Significación asintótica* (antes del BM) | | 0,071 | 0,071 | 0,031 | 0,014 |
| Significación asintótica* (después del BM) | | 0,113 | 0,113 | 0,022 | 0,002 |

(*) Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica. (**) Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.125, se recogen los resultados de los análisis de los valores de macroelementos obtenidos después de realizar los tratamientos. Se observó que había diferencias entre los distintos tratamientos para los valores de K⁺, Ca²⁺ y Na⁺ asimilable, y entre los valores de P₂O₅ asimilable después de que se aplicase el tratamiento con BM, debido a que el muestreo se realizó en el mes de diciembre cuando las temperaturas eran más bajas lo cual, junto con la

alcalinidad del suelo, hace que se transformase a formas no asimilables de fósforo. Con respecto al K^+ asimilable también se encontraron diferencias entre los valores cuando se utilizaron como biodesinfectantes vinazas de remolacha, de vino o estiércol, con respecto al testigo BM. También se encontraron diferencias entre los tratamientos para los valores de Ca^{2+} , con niveles de significación similares a los que existían antes de realizar los tratamientos (Tabla 4.122). Al analizar el Na^+ asimilable se observó que tanto el tratamiento con BM como el de vinazas de remolacha, con los valores más altos, presentaron diferencias con respecto a los demás tratamientos, observándose además que para el resto de tratamientos disminuyó. También se produjo un incremento en la profundidad entre 0-20 cm para todos los tratamientos en los valores de N_{total} , sobre todo en los tratamientos que incorporaron estiércol.

Tabla 4.125. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) después de finalizar el periodo de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | $N_{total}^{(**)}$ | $P_2O_5^{(**)}$ | $K^{+(**)}$ | Ca^{2+} | $Mg^{2+(**)}$ | Na^+ |
|--|------------------|--------------------|-----------------|-------------|-------------|---------------|-------------|
| Testigo (BM) | 0-20 | 1,21 ± 0,10 | 0,81 ± 0,07 | 0,47 ± 0,07 | 5,42 ± 0,30 | 0,52 ± 0,06 | 0,52 ± 0,10 |
| | 20-40 | 0,95 ± 0,10 | 0,26 ± 0,03 | 0,38 ± 0,05 | 5,31 ± 0,04 | 0,48 ± 0,03 | 0,38 ± 0,07 |
| | Media | 1,08 ± 0,17 | 0,53 ± 0,30 | 0,42 ± 0,08 | 5,36 ± 0,20 | 0,50 ± 0,05 | 0,45 ± 0,11 |
| | | a | b | a | b | a | b |
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m ² + plástico VIF | 0-20 | 1,32 ± 0,06 | 0,42 ± 0,01 | 0,56 ± 0,04 | 6,02 ± 0,07 | 0,60 ± 0,07 | 0,70 ± 0,07 |
| | 20-40 | 0,98 ± 0,11 | 0,25 ± 0,01 | 0,33 ± 0,04 | 5,47 ± 0,39 | 0,48 ± 0,05 | 0,41 ± 0,06 |
| | Media | 1,15 ± 0,20 | 0,33 ± 0,10 | 0,45 ± 0,13 | 5,74 ± 0,39 | 0,54 ± 0,08 | 0,55 ± 0,17 |
| | | a | a | a | b | a | b |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,48 ± 0,23 | 0,79 ± 0,08 | 0,93 ± 0,40 | 5,56 ± 0,86 | 0,65 ± 0,34 | 0,50 ± 0,20 |
| | 20-40 | 0,93 ± 0,36 | 0,61 ± 0,07 | 0,53 ± 0,15 | 4,93 ± 0,19 | 0,47 ± 0,06 | 0,33 ± 0,01 |
| | Media | 1,20 ± 0,41 | 0,70 ± 0,12 | 0,73 ± 0,35 | 5,25 ± 0,67 | 0,56 ± 0,25 | 0,41 ± 0,16 |
| | | a | b | b | ab | a | b |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,94 ± 0,39 | 0,95 ± 0,09 | 0,88 ± 0,02 | 5,06 ± 0,08 | 0,58 ± 0,01 | 0,30 ± 0,01 |
| | 20-40 | 1,18 ± 0,34 | 0,58 ± 0,25 | 0,64 ± 0,07 | 4,98 ± 0,11 | 0,51 ± 0,04 | 0,27 ± 0,03 |
| | Media | 1,56 ± 0,53 | 0,77 ± 0,26 | 0,76 ± 0,14 | 5,02 ± 0,10 | 0,55 ± 0,05 | 0,29 ± 0,03 |
| | | a | b | b | a | a | a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,88 ± 0,12 | 0,87 ± 0,02 | 0,91 ± 0,07 | 4,87 ± 0,18 | 0,57 ± 0,06 | 0,30 ± 0,02 |
| | 20-40 | 1,25 ± 0,09 | 0,57 ± 0,04 | 0,62 ± 0,10 | 4,80 ± 0,17 | 0,48 ± 0,05 | 0,22 ± 0,03 |
| | Media | 1,57 ± 0,36 | 0,72 ± 0,17 | 0,77 ± 0,18 | 4,83 ± 0,16 | 0,52 ± 0,07 | 0,26 ± 0,05 |
| | | a | b | b | ab | a | a |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,41 ± 0,16 | 0,84 ± 0,11 | 0,59 ± 0,07 | 4,95 ± 0,08 | 0,51 ± 0,01 | 0,26 ± 0,01 |
| | 20-40 | 1,15 ± 0,21 | 0,59 ± 0,15 | 0,56 ± 0,11 | 5,04 ± 0,07 | 0,49 ± 0,03 | 0,27 ± 0,03 |
| | Media | 1,28 ± 0,22 | 0,72 ± 0,18 | 0,58 ± 0,08 | 5,00 ± 0,09 | 0,50 ± 0,02 | 0,27 ± 0,02 |
| | | a | b | b | ab | a | a |
| Significación asintótica (antes BM) | | 0,113 | 0,451 | 0,004 | 0,003 | 0,523 | 0,000 |
| Significación asintótica (después BM) | | 0,191 | 0,008 | 0,008 | 0,005 | 0,565 | 0,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

Tabla 4.126. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) después de finalizar el periodo de biodesinfección (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe ^(**) | Mn ^(**) | Cu ^(**) | Zn ^(**) |
|---|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Testigo (BM) Antes de aplicar el BM | 0-20 | 24 ± 1 | 46 ± 3 | 2,6 ± 0,1 | 8,3 ± 0,2 |
| | 20-40 | 20 ± 1 | 40 ± 3 | 2,4 ± 0,1 | 5,7 ± 0,6 |
| | Media | 22 ± 2 | 43 ± 4 | 2,5 ± 0,1 | 7,0 ± 1,5 |
| | | a | a | a | a |
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m ² + plástico VIF Después de aplicar el BM | 0-20 | 22 ± 0,4 | 52 ± 3 | 2,7 ± 0,2 | 7,8 ± 0,7 |
| | 20-40 | 20 ± 1,3 | 42 ± 5 | 2,5 ± 0,1 | 5,5 ± 0,4 |
| | Media | 21 ± 1,2 | 47 ± 6 | 2,6 ± 0,2 | 6,6 ± 1,3 |
| | | a | a | a | a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 61 ± 13 | 64 ± 8 | 3,6 ± 0,6 | 10,3 ± 1,5 |
| | 20-40 | 35 ± 12 | 52 ± 8 | 3,1 ± 0,4 | 7,6 ± 1,0 |
| | Media | 48 ± 18 | 58 ± 10 | 3,3 ± 0,5 | 9,0 ± 1,9 |
| | | bc | ab | bc | a |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 94 ± 6 | 71 ± 4 | 4,8 ± 0,2 | 12,9 ± 0,4 |
| | 20-40 | 50 ± 19 | 60 ± 4 | 3,6 ± 0,5 | 7,7 ± 2,2 |
| | Media | 73 ± 27 | 66 ± 7 | 4,2 ± 0,7 | 10,3 ± 3,2 |
| | | bc | b | bc | a |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² + solarización | 0-20 | 114 ± 20 | 70 ± 8 | 4,7 ± 0,4 | 12,5 ± 0,8 |
| | 20-40 | 67 ± 7 | 70 ± 12 | 4,1 ± 0,4 | 7,4 ± 0,2 |
| | Media | 90 ± 28 | 70 ± 9 | 4,4 ± 0,5 | 9,9 ± 2,8 |
| | | c | b | c | a |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 0-20 | 46 ± 19 | 59 ± 7 | 3,4 ± 0,5 | 10,8 ± 1,3 |
| | 20-40 | 34 ± 10 | 50 ± 9 | 2,8 ± 0,5 | 7,1 ± 2,0 |
| | Media | 40 ± 15 | 54 ± 9 | 3,1 ± 0,6 | 9,0 ± 2,5 |
| | | b | ab | ab | a |
| Significación Asintótica* | | 0,000 | 0,001 | 0,000 | 0,215 |
| Significación Asintótica* | | 0,000 | 0,002 | 0,000 | 0,121 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. ^(**)Diferencias estadísticamente significativas en profundidad.

En la Tabla 4.126, se recogen los análisis de los valores de micronutrientes obtenidos después de realizar los tratamientos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para todos los micronutrientes estudiados. Al comienzo del experimento el Fe y el Mn presentaban dos grupos (Tabla 4.123), un grupo que incluye las parcelas de BM, vinazas de vino y de remolacha solas, y otro grupo definido por el tratamiento con estiércol y estiércol combinado con vinazas de remolacha. Después de realizar el experimento se observó **que el contenido de Fe asimilable aumentaba en todos los tratamientos realizados** con biodesinfectantes definiéndose tres grupos, uno formado por las vinazas de remolacha combinadas con estiércol, con los valores más elevados, otro intermedio formado por las vinazas de vino y otro por el tratamiento con BM, con los más inferiores, perteneciendo el

grupo de las vinazas de remolacha solas y el estiércol fresco de ovino a los grupos formados por las vinazas de vino y el estiércol. Con respecto al Mn se observó, al igual que en el Fe, que se produjo un aumento en su contenido con todos los biodesinfectantes utilizados. Antes de realizar los tratamientos, sólo se observaban diferencias en aquellas parcelas en las que se iba a incorporar estiércol (Tabla 4.123). Una vez realizado el tratamiento se observó que los tratamientos con estiércol fresco de ovino presentaron diferencias con respecto al tratamiento de BM, quedando los tratamientos de vinazas de remolacha y de vino en grupos intermedios. También se observó un incremento del Zn asimilable muy similar para todos los tratamientos.

Una vez que finalizó el cultivo de pimiento y se tomaron muestras de suelo para ver la evolución de los parámetros químicos estudiados, observando cuáles fueron las posibles diferencias entre el comienzo y el final del ensayo. En las Tablas 4.127-129 se recogen los resultados de los análisis obtenidos después del cultivo de pimiento en la campaña 2007/2008.

Tabla 4.127. Valores medios de MO, C_{orgánico}, pH y CE en el en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) después del cultivo de pimiento (Campaña 2007/2008).^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | MO (%) | C g/kg | pH | CE mS/cm |
|--|------------------|------------------|--------------|-------------|-------------|
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m ² + plástico VIF | 0-20 | 2,03 ± 0,10 | 11,79 ± 0,59 | 7,30 ± 0,20 | 1,62 ± 0,55 |
| | 20-40 | 1,97 ± 0,14 | 11,44 ± 0,79 | 7,59 ± 0,03 | 1,61 ± 0,29 |
| | Media | 2,0 ± 0,11 | 11,61 ± 0,65 | 7,44 ± 0,20 | 1,61 ± 0,39 |
| | | a ^(*) | a | a | b |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 2,14 ± 0,38 | 12,44 ± 2,18 | 7,48 ± 0,18 | 1,31 ± 0,49 |
| | 20-40 | 2,14 ± 0,33 | 12,39 ± 1,93 | 7,79 ± 0,07 | 0,70 ± 0,26 |
| | Media | 2,14 ± 0,33 | 12,41 ± 1,90 | 7,64 ± 0,21 | 0,96 ± 0,47 |
| | | a | a | ab | ab |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 2,88 ± 0,31 | 16,71 ± 1,78 | 6,97 ± 0,12 | 1,24 ± 0,46 |
| | 20-40 | 2,47 ± 0,28 | 14,33 ± 1,64 | 7,56 ± 0,17 | 0,71 ± 0,31 |
| | Media | 2,68 ± 0,35 | 15,52 ± 2,01 | 7,27 ± 0,35 | 0,98 ± 0,46 |
| | | a | a | ab | ab |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² + solarización | 0-20 | 2,66 ± 0,24 | 15,41 ± 1,36 | 7,72 ± 0,11 | 1,11 ± 0,31 |
| | 20-40 | 2,38 ± 0,18 | 13,81 ± 1,04 | 7,59 ± 0,12 | 0,77 ± 0,17 |
| | Media | 2,52 ± 0,24 | 14,61 ± 1,40 | 7,66 ± 0,13 | 0,94 ± 0,29 |
| | | a | a | ab | ab |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 0-20 | 2,13 ± 0,13 | 12,34 ± 0,74 | 7,73 ± 0,08 | 0,73 ± 0,08 |
| | 20-40 | 2,13 ± 0,20 | 12,33 ± 1,13 | 7,71 ± 0,06 | 0,53 ± 0,05 |
| | Media | 2,13 ± 0,15 | 12,33 ± 0,88 | 7,72 ± 0,07 | 0,61 ± 0,12 |
| | | a | a | b | a |
| Significación Asintótica* | | 0,655 | 0,655 | 0,013 | 0,010 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Para los valores de MO (%), $C_{\text{orgánico}}$, pH y CE, obtenidos después del cultivo de pimiento, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Los valores de pH y CE, registraron tendencias similares, pero invirtiendo los valores. Para los valores de pH se observaron dos grupos, en uno se encontraba el tratamiento con BM, en el que registraron los valores más bajos y en el otro se encontraba el tratamiento con vinazas de vino, quedando el resto de tratamientos en una situación intermedia a ambos grupos. Por otro lado, para los valores de CE se observaron también dos grupos, y al contrario de lo que ocurrió entre los valores de pH, un grupo quedó definido por el tratamiento con vinazas de vino, con los valores inferiores y el otro por el tratamiento de BM, con los valores más elevados, perteneciendo el resto de los tratamientos a ambos grupos. En los tratamientos con vinazas de vino se ha observado, desde que se produjo la aplicación en el suelo (Tabla 4.124), un descenso en los valores de CE. Aunque no se observaron diferencias significativas, se puede señalar que **el contenido en MO (%) fue más alto en los tratamientos que incorporan al suelo biodesinfectantes**, sobre todo en aquellos en los que se incorporó estiércol fresco de ovino y máxime si tenemos en cuenta que este tratamiento se ha venido realizando desde la campaña 2001-2002.

Los valores de los macronutrientes obtenidos después de realizar el cultivo de pimiento se recogen en la Tabla 4.128 observándose que existían diferencias entre los distintos tratamientos, para **los valores de N_{total} , P_2O_5 , K^+ y Na^+** . **Con respecto al N_{total} y P_2O_5 las diferencias se observaron entre los tratamientos que incorporaron como biodesinfectante estiércol fresco de ovino, ya sea sólo o combinado con vinazas de remolacha, con los demás tratamientos, siendo menos patentes estas diferencias para el P_2O_5** , donde sólo se apreció en el tratamiento con estiércol fresco de ovino sin combinar. Sin embargo, se debe resaltar que este fenómeno no se ha observado en los análisis realizados anteriormente, sobre todo en aquellos realizados después de incorporar el estiércol. Al analizar el Ca^{2+} asimilable al final del cultivo de pimiento, también se observaron diferencias, viendo que el comportamiento fue similar al que se venía observando durante todo el ensayo (Tablas 4.122 y 124), donde los valores más altos se encontraban en el tratamiento con BM. El comportamiento del Na^+ asimilable, en el que también se observaron diferencias durante todo el ensayo, incluso antes de comenzar la experiencia, se observó que antes de que se aplicasen los biodesinfectantes las diferencias se encontraban principalmente en los tratamientos en los que se iban a incorporar vinazas de remolacha y estiércol fresco de ovino sin combinar, con respecto a los demás tratamientos. Después de realizar los tratamientos (Tabla 4.125), las diferencias se encontraron entre los tratamientos que incorporaron estiércol, con los valores más bajos, con el resto de tratamientos, mientras

que una vez que se dio por terminado el ensayo y después del cultivo de pimientos, se observó que las diferencias aparecieron entre los tratamientos con BM y vinazas de remolacha solas o combinadas con estiércol, que fueron las que presentaban los valores más altos, con respecto a los demás tratamientos. Se observó también durante todo el ensayo que el Na^+ asimilable fue más alto en los tratamientos con BM que en el resto.

Tabla 4.128. Valores medios de macroelementos (g/kg) en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) después del cultivo de pimiento.^(*)

| Tratamiento | Profundidad (cm) | N_{total} | P_2O_5 | K^+ | Ca^{2+} | Mg^{2+} | Na^+ |
|--|------------------|---------------------------|------------------------|--------------|------------------|------------------|---------------|
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m ² + plástico VIF | 0-20 | 1,16 ± 0,04 | 0,47 ± 0,02 | 0,40 ± 0,04 | 4,14 ± 0,11 | 0,57 ± 0,0 | 0,48 ± 0,12 |
| | 20-40 | 1,12 ± 0,03 | 0,41 ± 0,02 | 0,40 ± 0,06 | 4,58 ± 0,12 | 0,61 ± 0,03 | 0,48 ± 0,15 |
| | Media | 1,14 ± 0,04 | 0,44 ± 0,04 | 0,40 ± 0,05 | 4,36 ± 0,26 | 0,59 ± 0,03 | 0,48 ± 0,12 |
| | | a | a | a | b | a | b |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,32 ± 0,38 | 0,45 ± 0,10 | 0,59 ± 0,04 | 3,47 ± 0,09 | 0,56 ± 0,04 | 0,42 ± 0,12 |
| | 20-40 | 1,26 ± 0,24 | 0,44 ± 0,10 | 0,55 ± 0,06 | 3,81 ± 0,14 | 0,61 ± 0,07 | 0,35 ± 0,07 |
| | Media | 1,29 ± 0,29 | 0,44 ± 0,09 | 0,57 ± 0,05 | 3,64 ± 0,21 | 0,59 ± 0,06 | 0,39 ± 0,10 |
| | | a | a | bc | a | a | b |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,91 ± 0,16 | 0,56 ± 0,02 | 0,67 ± 0,02 | 3,84 ± 0,04 | 0,60 ± 0,01 | 0,35 ± 0,07 |
| | 20-40 | 1,80 ± 0,10 | 0,61 ± 0,04 | 0,63 ± 0,11 | 4,11 ± 0,16 | 0,66 ± 0,04 | 0,31 ± 0,09 |
| | Media | 1,86 ± 0,14 | 0,58 ± 0,04 | 0,65 ± 0,07 | 3,97 ± 0,18 | 0,63 ± 0,04 | 0,33 ± 0,08 |
| | | b | b | c | ab | a | ab |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m ² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,85 ± 0,10 | 0,52 ± 0,05 | 0,78 ± 0,11 | 3,82 ± 0,06 | 0,64 ± 0,03 | 0,40 ± 0,07 |
| | 20-40 | 1,61 ± 0,10 | 0,49 ± 0,04 | 0,72 ± 0,07 | 3,97 ± 0,05 | 0,62 ± 0,01 | 0,35 ± 0,04 |
| | Media | 1,73 ± 0,16 | 0,50 ± 0,04 | 0,75 ± 0,09 | 3,89 ± 0,10 | 0,63 ± 0,02 | 0,37 ± 0,05 |
| | | b | ab | d | a | a | b |
| Vinaza de vino 4 kg/m ² + solarización | 0-20 | 1,29 ± 0,21 | 0,50 ± 0,08 | 0,46 ± 0,04 | 3,54 ± 0,05 | 0,53 ± 0,02 | 0,25 ± 0,01 |
| | 20-40 | 1,26 ± 0,18 | 0,45 ± 0,14 | 0,52 ± 0,07 | 4,02 ± 0,15 | 0,61 ± 0,05 | 0,26 ± 0,02 |
| | Media | 1,27 ± 0,18 | 0,47 ± 0,11 | 0,49 ± 0,06 | 3,78 ± 0,28 | 0,57 ± 0,06 | 0,26 ± 0,01 |
| | | a | ab | ab | a | a | a |
| Significación Asintótica* | | 0,000 | 0,007 | 0,000 | 0,002 | 0,084 | 0,002 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

En la Tabla 4.129, se recogen los resultados de los análisis de microelementos de muestras tomadas después del cultivo de pimiento. Se observó que aparecían diferencias entre todos los tratamientos para los microelementos estudiados, igual que ocurría en análisis anteriores. Al inicio del experimento, antes de que se incorporaran los biodesinfectantes las diferencias se daban entre los tratamientos que incorporaron estiércol fresco de ovino, ya fuera sólo o combinado con vinazas de remolacha, con el resto de tratamientos, con la excepción del Zn, en el que se diferenciaban los tratamientos que posteriormente incorporaron estiércol con el BM, quedando los dos tratamientos con vinazas en un grupo

intermedio a ambos (Tabla 4.123). Las diferencias ocurrían, principalmente, entre los tratamientos de biodesinfección con estiércol fresco de ovino de años anteriores, de los tratamientos con solarización o BM, mientras que después de que se realizasen los tratamientos, el comportamiento observado dependía de cada tipo de tratamiento. Al finalizar el cultivo de pimiento el comportamiento observado fue similar al obtenido después de realizar los tratamientos.

Tabla 4.129. Valores medios de microelementos (mg/kg) en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia) después del cultivo de pimiento (Campaña 2007/2008).

| Tratamiento | Profundidad (cm) | Fe | Mn | Cu | Zn |
|---|------------------|---------|----------|------------|------------|
| Bromuro de metilo 98:2 a 30g/m² + plástico VIF | 0-20 | 23 ± 1 | 46 ± 1 | 2,4 ± 0,1 | 11,3 ± 0,3 |
| | 20-40 | 22 ± 1 | 44 ± 2 | 2,3 ± 0,1 | 10,7 ± 0,4 |
| | Media | 22 ± 1 | 45 ± 2 | 2,4 ± 0,1 | 11,0 ± 0,5 |
| | | a | a | a | a |
| Vinaza de remolacha 1,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 65 ± 16 | 62 ± 3 | 3,8 ± 0,6 | 14,2 ± 2,3 |
| | 20-40 | 58 ± 16 | 59 ± 7 | 3,1 ± 0,5 | 13,5 ± 2,4 |
| | Media | 61 ± 15 | 60 ± 5 | 3,4 ± 0,6 | 13,8 ± 2,2 |
| | | b | bc | b | ab |
| Estiércol fresco de ovino 2,5 kg/m² + solarización | 0-20 | 83 ± 3 | 63 ± 0,9 | 4,1 ± 0,1 | 15,9 ± 0,3 |
| | 20-40 | 85 ± 8 | 63 ± 5 | 4,0 ± 0,5 | 15,4 ± 0,8 |
| | Media | 84 ± 5 | 63 ± 3 | 4,0 ± 0,3 | 15,7 ± 0,6 |
| | | c | c | b | b |
| Estiércol fresco de ovino 1,25 kg/m² + Vinaza de remolacha 0,75 kg/m² + solarización | 0-20 | 92 ± 3 | 63 ± 3 | 4,2 ± 0,10 | 15,7 ± 0,4 |
| | 20-40 | 100 ± 5 | 67 ± 2 | 3,3 ± 0,25 | 14,8 ± 0,2 |
| | Media | 96 ± 6 | 65 ± 3 | 3,8 ± 0,51 | 15,2 ± 0,6 |
| | | d | c | b | b |
| Vinaza de vino 4 kg/m² + solarización | 0-20 | 42 ± 12 | 57 ± 4 | 3,8 ± 1,0 | 13,7 ± 1,7 |
| | 20-40 | 41 ± 12 | 55 ± 2 | 2,5 ± 0,5 | 12,9 ± 1,8 |
| | Media | 42 ± 11 | 56 ± 3 | 3,2 ± 1,0 | 13,3 ± 1,7 |
| | | b | b | ab | ab |
| Significación Asintótica* | | 0,000 | 0,000 | 0,001 | 0,001 |

(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma columna no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Al analizar el Fe asimilable se observó que se producían diferencias entre casi todos los tratamientos, existiendo cuatro grupos, uno formado por el tratamiento que combinó las vinazas de remolacha con el estiércol fresco de ovino a media dosis, que era el que menores valores presentó, seguido por otro grupo formado por el tratamiento con estiércol fresco de ovino, en otro se encontraban las vinazas de remolacha y de vino, mientras que en último lugar estaba el tratamiento de BM.

El Mn asimilable presentó tres grupos, uno formado por los tratamientos que incorporaron estiércol ya sea sólo o combinado con vinazas de remolacha, otro formado por las vinazas de vino y otro con el BM, quedando el tratamiento con vinazas de remolacha en una situación intermedia entre los tratamientos con estiércol y las vinazas de vino. Para los valores de Cu y Zn asimilable se observó el mismo comportamiento, presentándose diferencias entre los tratamientos que incorporan biodesinfectantes con respecto al tratamiento con BM, que fue el que presentó los valores menores, quedándose el tratamiento con vinazas de remolacha en una situación intermedia.

Se puede concluir de la realización de este ensayo, en el cual se comparan los efectos de varios biodesinfectantes de origen orgánico con el BM, principal desinfectante utilizado en la zona, que **se producen mejoras en la fertilidad del suelo. En principio se observaron descensos en los niveles de CE y en consecuencia de Na^+ asimilable con todos los biodesinfectantes utilizados, con respecto al BM, aunque en el caso de las vinazas de remolacha habría que ver que ocurre con su empleo reiterado a lo largo del tiempo. También se observa que el K^+ , uno de los macroelementos más importantes para las plantas, aumenta de forma considerable con todos los biodesinfectantes utilizados. Hay que destacar sobre todo que los biodesinfectantes utilizados producen un aumento en microelementos asimilables.** En la Tabla 4.130 se recogen para cada tratamiento la significación existente para cada tratamiento a lo largo del tiempo.

Tabla 4.130. Efecto sobre los parámetros de fertilidad de suelo de los distintos tratamientos en cultivo de pimiento en el invernadero CH de la finca Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia).

| Parámetro | Testigo bromuro de metilo | | | | Vinazas de remolacha | | | | Estiércol fresco de ovino | | | | Estiércol fresco de ovino + Vinazas de remolacha | | | | Vinazas de vino | | | |
|-------------------------------|---------------------------|----------|---------|-------|----------------------|----------|---------|-------|---------------------------|----------|---------|-------|--|----------|---------|-------|-----------------|----------|---------|-------|
| | Inicio | Antes BM | Tras BM | Final | Inicio | Antes BM | Tras BM | Final | Inicio | Antes BM | Tras BM | Final | Inicio | Antes BM | Tras BM | Final | Inicio | Antes BM | Tras BM | Final |
| MO (%) | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| C _{orgánico} | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| pH | a | ab | ab | a | a | a | a | ab | a | a | ab | ab | a | ab | ab | ab | a | b | b | b |
| CE | b | b | b | b | ab | b | b | ab | a | ab | ab | ab | ab | ab | ab | ab | ab | a | a | a |
| N _{total} | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | b | a | a | a | b | a | a | a | a |
| P ₂ O ₅ | a | b | a | a | a | b | b | a | a | b | b | b | a | b | b | ab | a | b | b | ab |
| K ⁺ | a | a | a | a | ab | b | b | c | b | b | b | d | b | b | b | ab | b | b | b | ab |
| Ca ²⁺ | b | b | b | b | ab | ab | ab | a | a | ab | ab | ab | ab | a | a | a | ab | a | a | a |
| Mg ²⁺ | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a | a |
| Na ⁺ | b | b | b | b | a | b | b | b | a | a | a | b | a | b | b | b | ab | a | a | a |
| Fe | a | a | a | a | a | bc | bc | b | b | bc | bc | c | b | c | c | d | a | b | b | b |
| Mn | a | a | a | a | a | ab | ab | bc | b | b | b | c | b | b | b | c | a | ab | ab | b |
| Cu | a | a | a | a | a | ab | ab | b | bc | bc | bc | b | b | c | c | b | a | ab | ab | ab |
| Zn | a | a | a | a | ab | a | a | ab | b | a | a | b | b | a | a | b | ab | a | a | a |

Inicio: antes de realizar los tratamientos; Antes BM: después de aplicar las enmiendas orgánicas pero antes de aplicar el BM Después BM después de aplicar las enmiendas orgánicas y BM; Final: después del cultivo de pimiento.

4.4.3.3. Influencia de las vinazas de vino y remolacha en viñedos establecidos. El estudio de la fertilidad de suelos en los viñedos establecidos se centró en Socuéllamos y Tomelloso (Ciudad Real). En el viñedo de Socuéllamos estudiamos la influencia de las vinazas de remolacha y de vino a las dosis de 2 y 4 l/m² respectivamente, mientras que en el viñedo de Tomelloso sólo las de vino a la dosis de 4 l/m².

Socuéllamos. Antes de aplicar los tratamientos de vinazas de vino y de remolacha (Tabla 4.131) se realizó un análisis de fertilidad del suelo para posteriormente comprobar cuál fue la influencia de los tratamientos sobre la fertilidad del suelo.

Tabla 4.131. Fertilidad del suelo en el viñedo de Socuéllamos (Ciudad Real) antes de realizar los tratamientos.^(*)

| Parámetro | Testigo | Vinaza de vino 4 l/m ² | Vinaza de remolacha 2 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------------------------|----------------|--------------------------------------|---|-----------------------------|
| pH | 7,93 ± 0,24 a | 8,05 ± 0,08 a | 8,01 ± 0,15 a | 0,044 |
| MO (%) | 0,53 ± 0,14 b | 0,55 ± 0,1 b | 0,38 ± 0,12 a | 0,002 |
| CE (mS/cm) | 0,15 ± 0,02 ab | 0,16 ± 0,02 b | 0,13 ± 0,02 a | 0,005 |
| g/kg | | | | |
| C | 3,04 ± 0,83 b | 3,18 ± 0,6 b | 2,23 ± 0,72 a | 0,002 |
| N_{total} | 0,47 ± 0,15 a | 0,43 ± 0,08 a | 0,39 ± 0,15 a | 0,082 |
| P₂O₅ | 0,145 ± 0,04 a | 0,135 ± 0,02 a | 0,12 ± 0,03 a | 0,170 |
| K⁺ | 0,20 ± 0,03 b | 0,16 ± 0,03 a | 0,17 ± 0,04 ab | 0,026 |
| Ca²⁺ | 2,51 ± 0,66 a | 2,69 ± 0,22 a | 2,19 ± 0,63 a | 0,130 |
| Mg²⁺ | 0,15 ± 0,02 a | 0,14 ± 0,02 a | 0,14 ± 0,03 a | 0,130 |
| Na⁺ | 0,01 ± 0,01 a | 0,01 ± 0,01 a | 0,01 ± 0,01 a | 0,094 |
| mg/kg | | | | |
| Fe | 11 ± 2 a | 10 ± 1 a | 10 ± 2 a | 0,070 |
| Mn | 54 ± 15 a | 41 ± 11 b | 45 ± 11 ab | 0,015 |
| Cu | 0,6 ± 0,2 a | 0,5 ± 0,06 a | 0,6 ± 0,2 a | 0,150 |
| Zn | 1,7 ± 0,3 a | 1,7 ± 0,2 a | 1,6 ± 0,3 a | 0,796 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Se parte de suelos que no son semejantes, es decir existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Estas diferencias se encontraban para los valores de MO (%) en el tratamiento con vinazas de remolacha con los registros más bajos, para la CE, K⁺ y Mn (Tabla 4.131). Un mes después de haber aplicado los tratamientos se realizó otra toma de muestras de suelo para estudiar la influencia de los tratamientos en la fertilidad (Tabla 4.132). Se debe tener en cuenta que al estar trabajando con un viñedo establecido, este durante la época posterior al tratamiento comienza su actividad vegetativa, por lo que al contrario que en

experimentos anteriores bajo invernadero, habrá que tener en cuenta la extracción de nutrientes por parte de las plantas.

Tabla 4.132. Efecto sobre los parámetros de fertilidad de suelo de los distintos tratamientos en viñedo de Socuélamos (Ciudad Real) después del tratamiento.^(*)

| Parámetro | Testigo | Vinaza de vino 4 l/m ² | Vinaza de remolacha 2 l/m ² | Significación asintótica |
|---|----------------|--------------------------------------|---|-----------------------------|
| pH | 8,05 ± 0,09 a | 8,11 ± 0,11 ab | 8,24 ± 0,18b | 0,033 |
| MO (%) | 0,55 ± 0,12 a | 0,51 ± 0,11 a | 0,57 ± 0,15 a | 0,570 |
| CE (mS/cm) | 0,14 ± 0,02 a | 0,23 ± 0,06 b | 0,62 ± 0,03 c | 0,000 |
| g/kg C_{orgánico} | 3,19 ± 0,69 a | 2,97 ± 0,65 a | 3,28 ± 0,86 a | 0,580 |
| N_{total} | 0,44 ± 0,12 a | 0,49 ± 0,11 a | 0,65 ± 0,18 b | 0,001 |
| P₂O₅ | 0,5 ± 0,13 c | 0,24 ± 0,07 b | 0,19 ± 0,12 a | 0,000 |
| K⁺ | 1,44 ± 0,27 a | 2,86 ± 0,34 b | 2,42 ± 0,56 c | 0,000 |
| Ca²⁺ | 0,32 ± 0,05 c | 0,16 ± 0,05 b | 0,12 ± 0,10 a | 0,000 |
| Mg²⁺ | 0,14 ± 0,04 a | 0,13 ± 0,04 a | 0,13 ± 0,03 a | 0,370 |
| Na⁺ | 0,07 ± 0,03 c | 0,04 ± 0,03 b | 0,02 ± 0,02 a | 0,000 |
| mg/kg Fe | 12,5 ± 1,87 a | 11,5 ± 1,48 a | 11,1 ± 1,42 a | 0,070 |
| Mn | 79,7 ± 14,61 c | 55,9 ± 14,29 a | 67,1 ± 12,4 b | 0,000 |
| Cu | 0,3 ± 0,2 b | 0,8 ± 0,3 c | 0,1 ± 0,1 a | 0,000 |
| Zn | 0,6 ± 0,23 a | 2,0 ± 0,8 b | 0,6 ± 0,3 a | 0,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

En los resultados obtenidos tras los análisis de suelo realizados después de que se aplicasen los tratamientos se observó una clara tendencia, en función de los productos utilizados (Tabla 4.132). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos para los valores de CE, P₂O₅, Ca²⁺ y Na⁺ asimilable. La CE se incrementó con las vinazas de remolacha, seguida de las vinazas de vino y por último el testigo, que presenta los valores más bajos, mientras que los valores de P₂O₅, Ca²⁺ y Na⁺ presentaron todos el mismo comportamiento, de forma que en el testigo se encontraban los valores asimilables más altos que disminuyen con las vinazas de vino y de remolacha respectivamente. Con respecto al Na⁺ los resultados obtenidos son completamente distintos a los que se observaron en otros de experimentos del trabajo en los cuales los valores de Na⁺ en los tratamientos con vinazas de remolacha fueron los más elevados. El P₂O₅ presentó la misma tendencia que en otros experimentos, es decir que de forma general disminuyó su contenido asimilable al aplicar vinazas de remolacha, puesto que debe de ser el subproducto de los utilizados que más aumenta la actividad biológica del suelo, permitiendo estos descensos la formación de

compuestos microbianos. Con respecto a otros parámetros, debemos de destacar que el pH aumentó en sentido contrario a lo que lo hacían los parámetros anteriores, es decir los valores más elevados nos los encontramos en el tratamiento con vinazas de remolacha disminuyendo en las vinazas de vino y testigo respectivamente. Lo mismo ocurrió para el contenido de N_{total} . Los metales pesados como Cu y Zn aumentaron de forma considerable, presentando diferencias estadísticamente significativas, cuando se utilizaron vinazas de vino con respecto a los otros dos tratamientos, debiéndose tener en cuenta estos aspectos sobre todo cuando se vayan a utilizar de forma reiterada estos productos en los mismos suelos.

Tomelloso. En el viñedo experimental de Tomelloso, se utilizó únicamente vinazas de vino a la dosis de 4 l/m². Antes de aplicar el tratamiento se analizaron los parámetros de fertilidad del suelo (Tabla 4.133).

Tabla 4.133. Parámetros de fertilidad de suelo de las distintas parcelas de viñedo antes del tratamiento en Tomelloso (Ciudad Real).

| Parámetro | Testigo | Vinaza de vino 4 l/m ² | Significación asintótica |
|-----------------|---------------|-----------------------------------|--------------------------|
| pH | 7,90 ± 0,15 a | 7,98 ± 0,13 a | 0,118 |
| MO (%) | 0,50 ± 0,09 a | 0,57 ± 0,11 a | 0,090 |
| CE (mS/cm) | 0,13 ± 0,01 a | 0,14 ± 0,01 a | 0,360 |
| g/kg C | 2,87 ± 0,52 a | 3,26 ± 0,63 a | 0,080 |
| N_{total} | 0,42 ± 0,12 a | 0,43 ± 0,06 a | 0,310 |
| P_2O_5 | 0,09 ± 0,02 a | 0,09 ± 0,01 a | 0,250 |
| K^+ | 0,15 ± 0,02 a | 0,15 ± 0,02 a | 0,470 |
| Ca^{2+} | 3,17 ± 0,20 a | 3,25 ± 0,33 a | 0,190 |
| Mg^{2+} | 0,08 ± 0,01 a | 0,09 ± 0,02 a | 0,500 |
| Na^+ | 0,01 ± 0,0 a | 0,01 ± 0,0 a | 0,130 |
| mg/kg Fe | 10 ± 1 a | 11 ± 2 a | 0,390 |
| Mn | 31 ± 16 a | 34 ± 22,68 a | 0,940 |
| Cu | 1,1 ± 0,2 a | 1,1 ± 0,2 a | 0,410 |
| Zn | 2,4 ± 0,4 a | 2,6 ± 0,5 a | 0,180 |

(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica.

Se observó en la Tabla 4.133 que partíamos de condiciones semejantes entre las parcelas de los distintos tratamientos, ya que no se observaron diferencias estadísticamente significativas. El suelo en el que se realizaron los estudios, es un suelo arenoso, con pH alcalino y pobre en materia orgánica, fenómeno que suele ser habitual en las plantaciones de vid de esta región vitivinícola española.

Mes y medio después de haber realizado los tratamientos, en el mes de junio, a la vez que se realizaba un muestreo para el estudio de la influencia de las vinazas de vino sobre las poblaciones de nematodos se recogieron muestras de suelo para estudiar la influencia sobre la fertilidad de las vinazas de vino a la dosis de 4 kg/m² (Tabla 4.134).

Tabla 4.134. Parámetros de fertilidad de suelo de las distintas parcelas de viñedo después del tratamiento en Tomelloso (Ciudad Real).^(*)

| Parámetro | Testigo | Vinaza de vino 4 l/m ² | Significación asintótica |
|-------------------------------|----------------|-----------------------------------|--------------------------|
| pH | 8,02 ± 0,09 a | 7,98 ± 0,11 a | 0,260 |
| MO (%) | 0,56 ± 0,12 a | 0,63 ± 0,11 a | 0,130 |
| CE (mS/cm) | 0,12 ± 0,01 a | 0,16 ± 0,02 b | 0,000 |
| g/kg C _{orgánico} | 3,24 ± 0,69 a | 3,56 ± 0,62 a | 0,240 |
| N _{total} | 0,45 ± 0,06 a | 0,45 ± 0,07 a | 0,770 |
| P ₂ O ₅ | 0,10 ± 0,02 a | 0,11 ± 0,03 a | 0,330 |
| K ⁺ | 0,16 ± 0,02 a | 0,59 ± 0,22 b | 0,000 |
| Ca ²⁺ | 3,74 ± 0,45 a | 1,66 ± 0,94 b | 0,000 |
| Mg ²⁺ | 0,08 ± 0,01 a | 0,29 ± 0,12 b | 0,000 |
| Na ⁺ | 0,01 ± 0,0 a | 0,1 ± 0,08 b | 0,000 |
| mg/kg Fe | 10,02 ± 1,62 a | 9,65 ± 2,19 a | 0,500 |
| Mn | 31 ± 20 a | 40 ± 30 a | 0,800 |
| Cu | 0,7 ± 0,1 b | 0,2 ± 0,1 a | 0,000 |
| Zn | 1,7 ± 0,3 b | 0,8 ± 0,4 a | 0,000 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media \pm desviación típica.

Las vinazas de vino incorporadas en el suelo a la dosis de 4 l/m² presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo en los valores de CE, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, Cu y Zn estudiados (Tabla 4.134). Se observó que aportan cationes metálicos como el K⁺, Mg²⁺, Na⁺, lo que conllevó un incremento en la CE. Sin embargo se observó que disminuyó el contenido en Ca²⁺ disponible quizás debido al aumento de Na⁺. Por otro lado se debe de destacar que disminuyen los valores de los metales pesados Cu y Zn, fenómeno que pudo observarse en los estudios realizados en suelo en condiciones controladas de laboratorio (Tablas 4.80 y 82) y que sin embargo no se observó en el viñedo estudiado anteriormente (Tabla 4.132).

4.5. CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES DE *Meloidogyne* PARA SU MANEJO AGRONÓMICO

Para caracterizar la virulencia de las poblaciones de nematodos del género *Meloidogyne* encontradas se ha partido de la utilización del test de HARTMAN & SASSER (1985), que nos permite separar las cuatro especies más frecuentes: *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica* (Tabla 4.135, Fig. 4.29), así como sus razas, lo que es fundamental para un manejo

agronómico de los problemas que plantean estos nematodos a través del diseño de unos rotaciones de cultivos que estén adaptados a cada área. En el test de HARTMAN & SASSER (1985) no figuran cultivares de tomates y pimientos portadores de genes de resistencia, que son fundamentales para caracterizar las poblaciones virulentas de los principales cultivos hortícolas (Tabla 4.135). Por ello, para este estudio proponen los test diferenciales de hospedadores de BELLO *et al.* (2004b), ROBERTSON *et al.* (2006, 2009, 2010) y TORRES *et al.* (2007), que al incluir cultivares de pimientos y tomates resistentes nos permiten diferenciar **biotipos** que son capaces de romper la resistencia dentro de una misma raza capaces de parasitar a los tomates portadores del gen de resistencia *Mi*, y otras poblaciones que pueden parasitar pimientos portadores de genes de resistencia (Tabla 4.135).

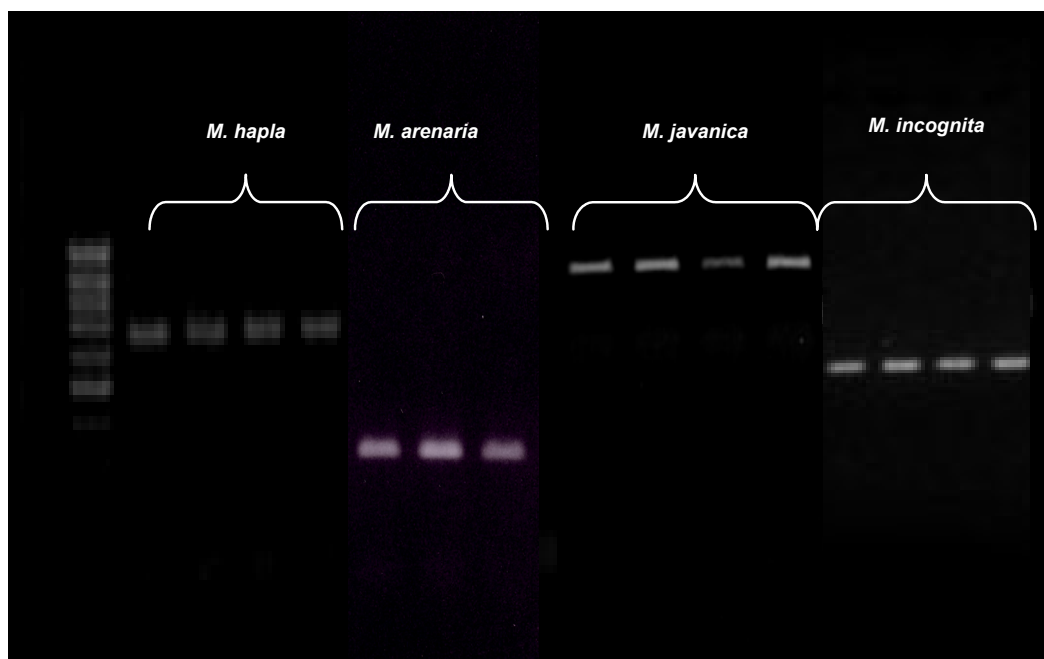


Figura 4.29. Determinación mediante PCR de las especies de *Meloidogyne* más frecuentes en España.

La caracterización de los biotipos de *Meloidogyne* es importante para la selección de plantas cultivadas portadoras de resistencia en el diseño de los sistemas de rotación. La dificultad para la caracterización de las poblaciones presentes en un determinado cultivo, se debe fundamentalmente a la existencia en algunos casos de mezclas de especies y biotipos, por lo que es necesario aislar las poblaciones a partir de una sola masa de huevos, que deben ser confirmadas mediante de técnicas de taxonomía y de biología molecular (Fig. 4.29), aunque las razas y los biotipos sólo se pueden separar con la utilización de plantas hospedadoras diferenciales, introduciendo en el caso de los cultivos de tomate y pimiento en el test variedades portadoras de genes de resistencia (Tablas 4.139-150; Fig. 4.30).

Tabla 4.135. Test para determinar razas del género *Meloidogyne* (HARTMAN & SASSER 1985).

| Especies y razas | Plantas huésped diferenciales ⁽¹⁾ | | | | | |
|---------------------|--|--------|----------|--------|-----------|--------|
| | Algodón | Tabaco | Pimiento | Tomate | Cacahuete | Sandía |
| <i>M. incognita</i> | | | | | | |
| 1 | - | - | + | + | - | + |
| 2 | - | + | + | + | - | + |
| 3 | + | - | + | + | - | + |
| 4 | + | + | + | + | - | + |
| <i>M. arenaria</i> | | | | | | |
| 1 | - | + | + | + | + | + |
| 2 | - | + | - | + | - | + |
| 3 ⁽²⁾ | - | + | + | + | - | + |
| <i>M. javanica</i> | - | + | - | + | - | + |
| <i>M. hapla</i> | - | + | + | + | + | - |

⁽¹⁾Algodón cv “Deltapine 61”, Tabaco cv “NC 95”, Pimiento cv “California Wonder”, Tomate cv “Rutgers”, Cacahuete cv “Florunner”, Sandía cv “Charleston Grey”; (-) huésped resistente, (+) huésped susceptible;
⁽²⁾FARGETTE (1987).

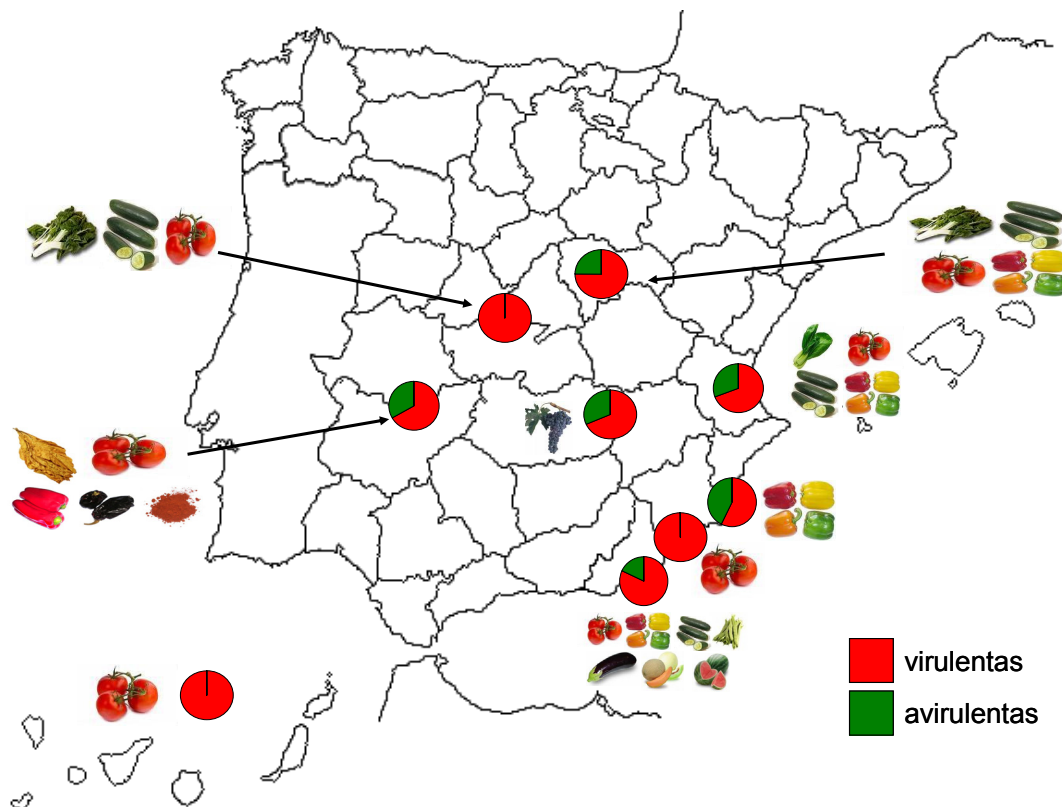


Figura 4.30. Selección de virulencia de nematodos del género *Meloidogyne* en pimiento y tomate resistentes en España.

Tabla 4.136. Caracterización de poblaciones del género *Meloidogyne* en España (HARTMAN & SASSER 1985, ROBERTSON *et al.* 2006, 2009, TORRES *et al.* 2007).

| Raza s | Biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón “DP61” | Tabaco “NC95” | Cacahuete “Florunner” | Sandía Ch. Grey ⁽³⁾ | <i>T. patula</i> ⁽⁴⁾ |
|--------------------------------|-----------------------|-------------------------|----|-----------------------|----|-------------------|------------------|--------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| | | S | R | S | R | | | | | |
| <i>M. arenaria</i> | | | | | | | | | | |
| 1 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | + | + | - |
| 2 | tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 3 ⁽⁵⁾ | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 3 ⁽⁵⁾ | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - | + | - |
| <i>M. hapla</i> ⁽⁶⁾ | | | | | | | | | | |
| A/B | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | + | - | -/+ |
| <i>M. incognita</i> | | | | | | | | | | |
| 1 | tomate | + | - | + | - | - | - | - | + | - |
| 1 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | - | - | + | - |
| 1 | pimiento | + | + | + | - | - | - | - | + | - |
| 1 | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | - | - | + | - |
| 2 | tomate | + | - | + | - | - | + | - | + | - |
| 2 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 2 | pimiento | + | + | + | - | - | + | - | + | - |
| 2 | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - | + | - |
| 3 | tomate | + | - | + | - | + | - | - | + | - |
| 3 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | + | - | - | + | - |
| 3 | pimiento | + | + | + | - | + | - | - | + | - |
| 3 | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | - | - | + | - |
| 4 | tomate | + | - | + | - | + | + | - | + | - |
| 4 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | + | + | - | + | - |
| 4 | pimiento | + | + | + | - | + | + | - | + | - |
| 4 | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | + | - | + | - |
| 5 ⁽⁷⁾ | tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | - | - | + | - |
| 6 ⁽⁷⁾ | tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | -(8) | + | - | + | - |
| 7 | tomate <i>Mi</i> (9) | - | - | + | + | + | + | - | + | - |
| <i>M. javanica</i> | | | | | | | | | | |
| 1 | tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 2 | ¿pimiento? (10) | + | ¿? | + | ¿? | - | + | - | + | ¿? |
| 3 | tomate (10) | - | - | + | ¿? | - | + | + | + | ¿? |
| 4 | ¿pimiento? (11) | + | ¿? | + | ¿? | - | + | + | + | ¿? |
| 5 | tomate <i>Mi</i> (12) | - | - | + | + | - | - | - | + | - |

(1) Pimiento S: Susceptible cvs “Early California Wonder” y “Sonar”; R: Resistente cvs “Atlante” y “Carolina Wonder”; (2) Tomate S: Susceptible cvs “Rutgers” y “Marmande”; R: Resistente cvs “Euphrates” y “Nikita”; (3) Sandía cv “Charleston Grey”; (4) *Tagetes patula*; (5) *M. arenaria* raza 3 FARGETTE (1987); (6) *M. hapla* raza A (15–17 cromosomas, haploide) y raza B (45–48 cromosomas, poliploide); (7) *M. incognita* razas 5/6 TORRES *et al.* (2007) que señalan en la raza 6 el algodón como (+), ha sido modificado posteriormente a (-) en (8) por ROBERTSON *et al.* (2009); (9) raza nueva; (10) *M. javanica* razas 2/3 RAMMAH & HIRSCHMANN (1990) no se estudiado su efecto sobre pimiento cv “Atlante” y tomate resistente, así como sobre *T. patula*; (11) *M. javanica* raza 4 descrita por CARNEIRO *et al.* (2003) no se estudiado su efecto sobre pimiento cv “Atlante” y tomate resistente, así como sobre *T. patula*; (12) *M. javanica* raza 5 ROBERTSON *et al.* (2009).

4.5.1. Almería

Los primeros datos de la respuesta de los hospedantes utilizados en el test de hospedadores diferenciados modificado (BELLO *et al.* 2004b) indicaban la presencia de *M. incognita* 2 tomate *Mi* (virulenta). Después de comprobar la presencia de mezcla de especies sobre tomate resistente y pimiento susceptible al estudiar su morfología perineal, confirmado mediante la aplicación de técnicas de biología molecular, podemos concluir que existe una mezcla de especies: *M. incognita* y *M. javanica*, cuyas razas y biotipos se presentan en la Tabla 4.137.

Tabla 4.137. Especies y biotipos de *Meloidogyne* en invernadero de Almería.

| Especie | Razas y biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón “DP61” | Tabaco “NC95” | Cacahuete “Florunner” |
|---------------------|--------------------|-------------------------|---|-----------------------|---|-------------------|------------------|--------------------------|
| | | S | R | S | R | | | |
| <i>M. incognita</i> | 1 tomate | + | - | + | - | - | - | - |
| <i>M. incognita</i> | 1 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | - | - |
| <i>M. javanica</i> | 1 tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + | - |

(1) S: Susceptible cv “Sonar”; R: Resistente cv “Atlante”; (2) S: Susceptible cv “Marmande”; R: Resistente cvs “Euphrates” y “Nikita”.

Los aislados de *M. incognita* se establecieron partiendo de cinco masas de huevos de color castaño del pimiento susceptible cv “Sonar”. Tras multiplicarlos en macetas sobre tomate susceptible cv “Marmande” se plantaron los restantes hospedadores del Test para aislar las posibles mezclas a excepción del pimiento susceptible cv “Sonar”. Los resultados ofrecieron las mismas respuestas en cuatro bioensayos, positivo para tomate susceptible cv “Marmande” y tomates resistentes cvs “Euphrates” y “Nikita”, siendo negativo para el resto de los hospedadores (pimiento resistente, tabaco, cacahuete), y el quinto bioensayo positivo, además, para tomates resistentes cvs “Euphrates” y “Nikita” (Tabla 4.137). Tras confirmar para todos los bioensayos la presencia de *M. incognita* al resultar positivo para pimiento susceptible cv “Sonar” y negativo para tabaco en todos los casos, se confirma la presencia de *M. incognita* 1 tomate *Mi* en cuatro de las cinco macetas (80%) y *M. incognita* 1 tomate en una de las macetas (20%).

Tabla 4.138. Presencia relativa de los biotipos de *M. incognita* y *M. javanica*.

| Especie, Raza, Biotipo | Presencia relativa (%) |
|--|------------------------|
| <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> | 80 |
| <i>M. incognita</i> 1 tomate | 20 |
| <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Presente* |

* No se calculó la presencia relativa.

Las especies y biotipos en una misma parcela de cultivo o en un invernadero se pueden presentar en porcentajes variables (Tabla 4.138). Su presencia relativa se ha determinado atendiendo a la respuesta diferencial de cada uno de los huéspedes utilizados para separar las poblaciones. En nuestro caso, a partir de la población de campo, el tabaco nos permitió establecer el aislamiento de *M. javanica* a partir de la planta con masas de huevos de color castaño oscuro, logrando la determinación de los biotipos tras separar cinco masas de huevos, que resultan positivos para tomate susceptible cv “Marmande”, negativo para pimiento cv “Sonar” en un primer bioensayo y positivo para tomates resistentes cvs “Euphrates” o “Nikita”, así como el tabaco en el segundo bioensayo. Los resultados se confirman con el estudio de la morfología perineal y mediante técnicas de biología molecular concluyendo que se trataba de ***M. javanica* 1 tomate *Mi***.

La presencia de poblaciones mixtas, tanto de especies como de biotipos, permite el empleo de alternativas de manejo basadas en la susceptibilidad, tolerancia o resistencia de los hospedadores. **El manejo de los bioensayos del test de hospedadores diferenciales modificado constituye un método que permite el diseño de rotaciones desde un aspecto funcional con objeto de eliminar, reducir o prevenir la aparición de poblaciones que infecten a las plantas portadoras de genes de resistencia a *Meloidogyne***. Tras estudiar las poblaciones de campo obtuvimos tres aislados, en mayor proporción se presentó ***M. javanica* 1 tomate *Mi***, que se puede manejar con el empleo de cultivares de pimiento susceptibles y resistentes en una rotación con fines productivos (Tabla 4.137). ***M. incognita* 1 tomate**, manejada con tomates y pimientos portadores de genes de resistencia, además de ***M. incognita* 1 tomate *Mi*** que sólo presenta al pimiento resistente como alternativa productiva viable.

El estudio de los biotipos encontrados en el invernadero se complementó con el estudio de las poblaciones de campo y aislados presentes en laboratorio. En el estudio de cinco aislados de una población de tomate de un invernadero en las proximidades de la Universidad de Almería se encontró ***M. incognita* 2 tomate *Mi***. Este biotipo apareció también en una población procedente de tomate de un invernadero nuevo de Uleila del Campo, donde antes de construir el invernadero se cultivaba almendro o esparto, lo que puede indicar que se pudo haber infestado con la introducción de la planta de tomate del semillero o estar de modo natural parasitando a los almendros, al esparto o a la flora arvense asociada. Nos inclinamos por la última hipótesis al comprobar que en muestras de suelo recogidas alrededor del sistema radicular de cinco higueras en Uleila del Campo se encuentran cuatro biotipos diferentes de ***M. incognita* 1 tomate, 1 tomate *Mi*, 2 tomate y 2 pimiento *Mi***, siendo negativos los dos almendros de la zona muestreados. Las poblaciones de la *M. incognita* 2 tomate podrían

corresponder a un complejo de *M. incognita* y *M. javanica*, pero se considera que *M. javanica* no está presente por encontrarse *M. incognita* 2 pimiento *Mi*, puesto que *M. javanica* no parasita pimiento, descartándose también la presencia de *M. arenaria* 2 que tampoco parasita pimiento como ocurrió en el caso de los aislados de Níjar, aunque si podría estar presente *M. arenaria* 3 que sí puede parasitar pimiento, por ello se recomienda utilizar las técnicas de biología molecular para poder separar las especies.

En una población de pepino de Roquetas de Mar se encontró *M. incognita* 1 pimiento *Mi*, indicando en este caso que las poblaciones de nematodos se especializan. Por último, en una población de tomate en invernadero de Pujaire (Cabo de Gata) se encuentra *M. incognita* 2 tomate *Mi* y *M. javanica* 1 tomate *Mi*, aunque se confirma que *M. incognita* 2 tomate *Mi* puede ser el resultado de un complejo formado por *M. incognita* 1 y *M. javanica* 1 tomate (Tablas 4.139 y 140).

Tabla 4. 139. Poblaciones de *Meloidogyne* estudiadas en Almería.

| Localidad y muestras | Especie, Raza, Biotipo | Observaciones |
|--|---|--|
| 1a. La Cañada (Almería capital) 26.823 tomate invernadero | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> | Población de campo original (B39) |
| 1b. 26.823 tomate invernadero | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> | 5 aislados de masas de huevos de tomate cv "Marmande" cultivado en la población original (B39) |
| 2a. Uleila del Campo 26.320 tomate invernadero, dividido en las submuestras a & b | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> | Población de campo original (B91) |
| 2b. 26.320 tomate invernadero | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> | 5 aislados de tomate población original (B91). Se tiraron los aislados 4R & 5R, se hacen una nueva bandeja 91bis del tabaco aislado 1R = 2R. |
| 3a. Uleila del Campo 26.832 higuera (índice 7), Finca 1 (Vc 1) | <i>M. incognita</i> 1 tomate & 1 tomate <i>Mi</i> | Población original (B96) |
| 3b. 26.833 higuera (índice 0), Finca 1 (Vc 2), | <i>M. incognita</i> 2 tomate ⁽¹⁾ | Población original (B96) |
| 3c. 26.834 higuera (índice 4), Finca 1 (Vc 3) | <i>M. incognita</i> 1 tomate | Población original (B96) |
| 3d. 26.835 a 26.837 almendro, sin raíces, Finca 1 (Vc 6,7,8) | ----- | Muestras negativas |
| 3e. 26.838 higuera (índice 2), Finca 2 (Fr 1) | <i>M. incognita</i> 2 pimiento <i>Mi</i> ⁽²⁾ | Población original (B96) |
| 3f. 26.839 higuera (índice 5), Finca 2 (Fr 2) | <i>M. incognita</i> 2 pimiento <i>Mi</i> ⁽²⁾ | Población original (B96) |
| 4a. Pujaire (Cabo de Gata) 26.842 tomate invernadero | <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población original (B96). Se determina por patrón perineal <i>M. javanica</i> . |
| 4b. 26.843 tomate invernadero | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> ⁽³⁾ | Población original (B96). Se determina por patrón perineal <i>M. javanica</i> . |
| 5a. San Isidro, Níjar 26.262 tomate invernadero dividido en A & B | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> ⁽³⁾ | Población original (B103) Mezcla |
| 5b. 26.262 tomate invernadero, fracción A | <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | 5 aislados de tabaco cultivado en la población original (B103R). Se tiró. |
| 5c. 26.262 tomate invernadero, fracción A | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> | 4 aislados de pimiento Sonar de población original (1R, 2R, 4R, 5R B103bis). Se junta con B 103 |
| 5d. 26.262 tomate invernadero, fracción A | <i>M. incognita</i> 1 tomate | 1 aislados de pimiento Sonar de la población original 3R (B103bis). Se junta con B 103 |

Tabla 4. 139 (continuación). Poblaciones de *Meloidogyne* estudiadas en Almería.

| Localidad & muestras | Especie, Raza, Biotipo | Observaciones |
|---|---|--|
| 6a. Roquetas del Mar 28.167 pepino holandés, invernadero dividido en las submuestras A & B | <i>M. incognita</i> 1 pimiento <i>Mi</i> | Población original (B126) Población batata 3290 |
| 7a. San Isidro, Níjar 29.149-50 tomate invernadero 4 | <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B161) invernadero 4 <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 7b. 29.151-52 judía invernadero 5 | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> & <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B161) invernadero 5, mezcla exp. Vinaza, tomate resistente |
| 7c. 29.153 tomate invernadero 1 | <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B161) |
| 7d. 29.154 tomate invernadero 1 | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B161) |
| 7e. 29.155 tomate invernadero 1 | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> & <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B161) invernadero 1, mezcla <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> y <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 7f. 29.156 tomate invernadero 1 | <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B161) invernadero 1, mezcla <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> y <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 7g. 29.163-65 judía invernadero 5 | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B167) |
| 7h. 29.166 higuera | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> & <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B171) Higuera mezcla |
| 7i. 29.167-68 vid | <i>M. javanica</i> 1 tomate <i>Mi</i> | Población de campo (B171) |

(1) No se pudo confirmar que parasita pimiento cv “Sonar”, pero se considera válida puesto que la raza existe en la localidad; (2) Se debería separar aislados de tabaco para confirmar que es *M. incognita* 2 tomate *Mi* o determinar si hay *M. arenaria*. No hay posibilidad de que exista *M. javanica* puesto que parasita pimiento; (3) Complejo de *M. incognita* 1 tomate y *M. javanica* 1 *Mi*.

Por ello señalamos **la presencia en Almería de complejos de poblaciones que pueden estar formadas por diferentes especies y biotipos, que pueden encontrarse incluso parasitando a una misma planta** (Tabla 4.139), así como la selección en cultivos intensivos como es el caso del invernadero próximo a la Universidad de Almería del biotipo de *M. incognita* 2 tomate *Mi* y en Roquetas de Mar de *M. incognita* 1 pimiento *Mi*, pudiéndose encontrar los diferentes nematodos en áreas no cultivadas o en frutales de secano como higueras o incluso ser introducidas mediante las plantas de los semilleros. **Ello nos indica la complejidad del problema que está relacionado con el manejo de la resistencia y del cultivo.**

Se confirma la existencia de cultivares de judías, batatas, pimiento, *Tagetes patula*, tomate, tabaco, algodón y cacahuete que presentan genes de resistencia. **Pero la virulencia de las poblaciones se puede seleccionar con su utilización en monocultivo, al mismo tiempo perderse con la rotación de cultivos con variedades susceptibles** (Tabla 4.139).

Tabla 4.140. Cultivos y especies de *Meloidogyne* encontradas en Almería.

| Cultivos | <i>M. arenaria</i> | <i>M. incognita</i> | <i>M. javanica</i> | <i>Meloidogyne</i> spp. | Total |
|-----------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|-------|
| Acelga | ---- | 1 | ---- | ---- | 1 |
| Berenjena | ---- | 1 | 1 | ---- | 2 |
| Calabacín | 1 | 2 | 1 | ---- | 4 |
| Higuera | ---- | 6 | 1 | ---- | 7 |
| Judía | ---- | 1 | ---- | 1 | 2 |
| Melón | 1 | 2 | 2 | ---- | 5 |
| Patatas | ---- | ---- | 1 | ---- | 1 |
| Pepino | ---- | 2 | 1 | ---- | 3 |
| Sandía | ---- | 1 | 2 | ---- | 3 |
| Tomate | ---- | 7 | 2 | ---- | 9 |
| Vid | ---- | ---- | 1 | ---- | 1 |
| Total | 2 (5,3 %) | 23 (60,5 %) | 12 (31,6 %) | 1 (2,6 %) | 38 |

En Almería se han citado las tres especies del género *Meloidogyne* siguientes: *M. arenaria* (5,3%), *M. incognita* (60,5%) y *M. javanica* (31,6 %) (Tabla 4.140). En relación con su epidemiología *M. arenaria* está muy localizada sobre *Cucumis melo* y *Cucurbita pepo* en El Ejido, aunque estudiado el material original de *C. pepo* corresponde a *M. incognita*, también se encontró sobre *Cucurbita maxima*, que corresponde a *C. pepo*, en Níjar (SANZ *et al.* 1998), **no habiéndose podido confirmar las dos citas de *M. arenaria* sobre *C. melo* en El Ejido y *C. pepo* en Níjar.** No se han caracterizado las razas y biotipos de *M. arenaria*, aunque se considera que puede pertenecer a la raza 2, que es la más frecuente en la península Ibérica, comportándose desde el punto de vista patológico como *M. javanica* 1 tomate *Mi*, que parasita a las variedades resistentes de tomate, pero no a **los pimientos, cultivo que se pueden utilizar en los sistemas de rotación para regular sus poblaciones**, aunque con el empleo continuado de pimiento se puede seleccionar la raza 3 que es capaz de parasitar tanto a pimientos susceptibles como resistentes. Por otro lado, señalar que la duración del ciclo biológico de *M. arenaria* es mayor que el de *M. incognita* y *M. javanica*, pudiéndose desarrollar a temperaturas más bajas. Por todo ello, se considera que no es frecuente en los cultivos hortícolas de Almería, donde predominan las otras dos especies encontradas: *M. incognita* (60,5%) y *M. javanica* (31,6%).

La especie más frecuente en Almería es *M. incognita*, que está representada por las razas 1 y 2, así como los seis biotipos siguientes: **Raza 1 tomate**, que es avirulenta a tomates y pimientos resistentes, estando muy localizado en higuera de Uleila del Campo y en tomate de San Isidro (Níjar); **Raza 1 tomate *Mi***, que parasita a tomates portadores de resistencia pero no a pimientos resistentes, **es el biotipo más frecuente en Almería**, habiéndose encontrado en higuera de San Isidro (Níjar) y Uleila del Campo, tomate de Pujaire (Cabo de Gata) y San

Isidro (Níjar) y judía de San Isidro; **Raza 1 pimiento *Mi***, que parasita a pimientos y tomates resistentes, estando muy localizado sobre pepino en Roquetas de Mar; en relación con **la raza 2**, que parasita a tabaco NC 95, se han encontrado tres biotipos: el biotipo **Raza 2 tomate** sobre higuera de Uleila del Campo, no parasitando a pimientos y tomates resistentes, por lo que se considera un biotipo avirulento; el biotipo más frecuente es **Raza 2 tomate *Mi***, que parasita a tomates resistentes, encontrándose en tomate de Uleila del Campo, que puede estar constituida por poblaciones mixtas de *M. incognita* 1 tomate *Mi* y *M. javanica* 1 tomate *Mi* y de La Cañada, **población tipo**, en un comienzo, las poblaciones son avirulentas a tomates portadores de genes de resistencia; **Raza 2 pimiento *Mi*** que parasita a pimientos y tomates resistentes, se ha encontrado en higuera de Uleila del Campo, estas poblaciones podrían estar constituidas por la mezcla de los biotipos *M. incognita* 1 pimiento *Mi* con *M. javanica* 1 tomate *Mi*, o con el biotipo *M. incognita* 2 tomate, aunque se ha confirmado que se trata de *M. incognita*, mediante la aplicación de técnicas de biología molecular. Se debe destacar que todos los biotipos encontrados dentro de la especie *M. incognita*, con la excepción de **Raza 1 pimiento *Mi*** que sólo aparece en Roquetas de Mar, aparecen en higueras asilvestradas de Uleila del Campo, por lo que se considera que pueden presentarse de modo natural en la provincia de Almería.

M. incognita ha sido citada anteriormente en acelga en Alboloduy (TORRES *et al.* 2007), sandía en El Ejido (SANZ *et al.* 1998), melón en Campo de Níjar (ORNAT *et al.* 1999) y El Ejido (SANZ *et al.* 1998), pepino en San Isidro (Níjar) (TORRES *et al.* 2007), calabaza en Campo de Níjar (ORNAT *et al.* 1999) y El Ejido (TORRES *et al.* 2007), tomate y berenjena en Campo de Dalías (ORNAT *et al.* 1999).

La especie *M. javanica* es un nematodo de ambientes termófilos, que se encuentra fundamentalmente en el litoral mediterráneo desde Cádiz hasta Mazarrón (Murcia), volviéndose a encontrar en el litoral catalán, así como en Baleares y Canarias. Se ha caracterizado sólo el biotipo *M. javanica* **raza 1 tomate *Mi***, que parasita a los tomates resistentes portadores del gen (*Mi*), pero no a los cultivos de pimientos que pueden utilizarse en una rotación de cultivos como método de manejo, el biotipo se ha encontrado sobre tomate en Pujaire (Cabo de Gata) y sobre higuera, judía, patata, tomate y vid de San Isidro (Níjar), en el caso de la higuera y de la vid éstas se encontraban en el borde de un invernadero, por lo que son importantes en la reinfección del mismo. Se señala que *M. javanica* 1 tomate *Mi* puede estar distribuido fundamentalmente en el litoral, Campo de Dalías, El Ejido, Pujaire (Cabo de Gata), Níjar y Roquetas de Mar, que son las zonas más termófilas de Almería, donde todas las poblaciones pueden parasitar a las variedades resistentes a tomates portadoras del gen (*Mi*), pero no parasitan a ningún cultivar de pimientos. *M. javanica* ha sido también encontrada en

sandía en Campo de Dalías (ORNAT *et al.* 1999), El Jabonero (TORRES *et al.* 2007), melón en Campo de Dalías (ORNAT *et al.* 1999), El Viso (Níjar) (SANZ *et al.* 1998), pepino en Campo de Dalías (VERDEJO *et al.* 2008), calabaza en El Ejido, berenjena en Aguadulce, Roquetas de Mar, patata en San Isidro, Níjar (TORRES *et al.* 2007).

Se debe destacar que con frecuencia en los invernaderos de Almería y especialmente en el litoral aparecen poblaciones mezcladas de los dos biotipos más frecuentes *M. incognita* **1 tomate *Mi*** y *M. javanica* **1 tomate *Mi***, que se comportan como el biotipo *M. incognita* **2 tomate *Mi***, fenómeno que se debe tener en cuenta a nivel de campo para poder diseñar unos sistemas de rotación adecuados, que nos permitan elegir cultivares de pimientos para reducir las poblaciones de *M. javanica* **1 tomate *Mi***, con lo que disminuye la presión sobre las variedades de tomate portadora del gen (*Mi*), pudiéndose en las rotaciones siguientes cultivar pimientos injertados sobre pies resistentes, y a continuación una rotación con pimientos susceptibles, con lo que se reducen los niveles de poblaciones virulentas de *M. incognita* y *M. javanica* a tomates resistentes, y a continuación se pueden plantar tomates susceptibles o maíz, pero sobre todo se deben encontrar otros cultivos resistentes a nematodos que sean viables económicamente, como batatas cvs “C4”, “TIS 3290” y “TIS 9162”, judía “Nema Snap” y tagetes. Conviene recordar, sobre todo, la necesidad de tener en cuenta los niveles de las poblaciones a final del cultivo por su valor como bioindicador para establecer cuál es la dinámica de las poblaciones a lo largo del cultivo, y poder diseñar sistemas de rotación que sean viables desde el punto de vista económico.

Se observó de modo experimental en el laboratorio que las poblaciones que parasitan cultivares de pimiento y tomate portadores de genes de resistencia se seleccionan en la mayoría de los casos por la presión de la utilización de modo continuado de la resistencia, especialmente los biotipos *M. incognita* **1 pimiento *Mi*** y **2 pimiento *Mi***, este comportamiento puede ser el principal factor limitante para el empleo de pimientos injertados sobre pie resistente como alternativa de manejo. Este fenómeno también se observa a nivel de campo cuando se vienen utilizando variedades resistentes, como ocurre en el caso de Almería donde el trabajo se centró en cinco invernaderos de San Isidro (Níjar), presentando los designados con los n^{os} **1, 2 y 5** poblaciones de *M. incognita* **1 tomate *Mi*** y *M. javanica* **1 tomate *Mi***, por lo que la alternativa de manejo son los pimientos injertados sobre pies resistentes; en el invernadero **nº 3** no se presentaban problemas de nematodos, aunque se debe estudiar los factores que han estado influyendo en la regulación de las poblaciones de *Meloidogyne*; el invernadero **nº 4** donde predomina el biotipo *M. javanica* **1 tomate *Mi***, pudiéndose utilizar como alternativa una rotación con pimientos, el **nº 5** estaba bordeado de higueras y vides que se encontraban infectadas por poblaciones de *M. incognita* **1 tomate *Mi***

y *M. javanica* **1 tomate Mi** virulentas a tomate resistentes, en el caso de la higuera, y sólo *M. javanica* **1 tomate Mi** en la vid que pueden reinfectar el invernadero.

Para conocer la dinámica de las diferentes especies, razas y biotipos, se deben cultivar plantas indicadoras a lo largo del cultivo y de la parcela, con el fin de poder diseñar sistemas de manejo donde técnicos especializados o los mismos agricultores puedan realizar la caracterización de razas y biotipos. Cuando el nivel de infección es alto al final del cultivo es necesario antes del próximo cultivo planificar el sistema de rotación, teniendo en cuenta las variedades tolerantes y resistentes tanto de pimiento como de tomate, así como otros cultivos resistentes a las poblaciones de *Meloidogyne* encontradas. Para todo ello, es fundamental desarrollar un test de hospedadores diferenciales para poder caracterizar las razas y biotipos, mediante el empleo de especies vegetales indicadoras, principalmente en los focos de *Meloidogyne*, que nos permita caracterizar sus poblaciones antes de establecer el cultivo próximo.

Se propone que durante el cultivo se introduzcan plantas indicadoras, que deben distribuirse por la parcela y especialmente en los focos de *Meloidogyne*, entre ellas tomates resistentes y susceptibles, pimientos susceptibles y tabaco NC95. Se pueden presentar varios casos, **en un 1º caso** en el que los pimientos resulten negativos, mientras que los tomates y el tabaco son positivos nos encontramos con el biotipo *M. javanica* **1 tomate Mi**, que se puede manejar agrónomicamente con una rotación con pimientos, esto ocurre en el invernadero **nº 4**; **en un 2º caso** que los tomates resistentes resulten negativos y los pimientos positivos nos encontramos con el biotipo *M. incognita* **1 tomate**, que es avirulento y se pueden utilizar tomates resistentes; **el 3º caso** que los pimientos susceptibles y los tomates resistentes son positivos, se trata del biotipo *M. incognita* **1 tomate Mi** donde la solución sería la rotación con pimientos injertados sobre pies resistentes; **4º caso** que puedan existir mezclas de biotipos *M. incognita* **1 tomate Mi** y *M. javanica* **1 tomate Mi**, que se comporta como el biotipo *M. incognita* **2 tomate Mi**, parasitando tabaco “NC95”, tomates resistentes y pimientos susceptibles, es el caso de los invernaderos **nºs 1, 2 y 5**, la solución mas eficaz es hacer una rotación con pimientos injertados sobre pies resistentes.

Propuesta como sistema de rotación general, después de tomates resistentes poner pimientos susceptibles, puesto que con toda seguridad se trata del biotipo *M. javanica* **1 tomate Mi**, que no parasita pimientos, esto ocurre en el invernadero **nº4**, en los casos restantes se recomienda hacer una rotación con pimientos injertados sobre pies resistentes, invernaderos **nºs 1, 2 y 5**. Por otro lado, si las poblaciones son muy bajas al final de los cultivos susceptibles se puede rotar con cultivos resistentes como pimientos y tomates, así

como maíz y batatas cvs “C4”, “TIS 3290” y “TIS 9162”, para impedir el desarrollo de las poblaciones de *Meloidogyne*, que debe complementarse con métodos de biodesinfección de suelos. **Cuando nos encontramos con poblaciones bajas, después de la utilización de variedades resistentes, se recomienda cultivar tomates y pimientos susceptibles para impedir que se seleccionen poblaciones virulentas a tomates y pimientos, determinando al final del cultivo las características de los biotipos para diseñar la próxima rotación, que debe estar complementada con una biodesinfección de suelos para evitar el incremento de las poblaciones.**

4.5.2. Castilla-La Mancha y Madrid

Estas dos Comunidades Autónomas se consideran como una unidad biogeográfica desde el punto de vista agrario, puesto que se ha venido observando que el comportamiento agroecológico de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* es muy similar, presentando incluso las mismas especies y biotipos (Tabla 4.141). Se puede destacar que el género *Meloidogyne* está ampliamente distribuido en cultivos hortícolas de regadío, donde se ha encontrado fundamentalmente sobre acelgas, alcachofas, berenjena, brasicas, cucurbitáceas, endivias, lechuga, leguminosas, pimiento, tomates y solanáceas en general, e incluso zanahorias, junto con una serie de plantas adventicias, entre ellas las pertenecientes a los géneros *Amaranthus*, *Malva*, *Marrubium*, *Portulaca* y *Ranunculus*, encontrándose también en cultivos extensivos de regadío, principalmente patatas, remolacha y tabaco, en secano se ha encontrado con frecuencia en frutales como higueras y viñedos. Por último se deberían confirmar las citas sobre *Avena sativa* y *Hordeum vulgare*, entre los cereales, habiéndose encontrado entre las flores sobre *Antirrhinum majus* en Madrid (Capital) (Tabla 4.141).

Se considera que constituyen en esta región el principal problema entre los nematodos fitoparásitos, por su repercusión en el rendimiento de los cultivos. Entre las especies encontradas destacan *M. arenaria*, que es característica de los ambientes mediterráneos continentales del interior de la Península Ibérica, con inviernos fríos, y *M. incognita* que presenta una distribución más amplia por la Península Ibérica, Islas Baleares y Canarias. Está muy localizada en cultivos determinados *M. hapla*, de ambientes fríos del centro y norte de Europa, sobre zanahoria en Las Vegas (Madrid) y fresas de Marchamalo (Guadalajara), aunque se debe de señalar que es la especie predominante en el cultivo de fresa en Huelva. Se debe destacar la ausencia de *M. javanica*, una especie de ambientes termófilos presente en el litoral mediterráneo, Baleares y Canarias.

Tabla 4. 141. Poblaciones del género *Meloidogyne* en Castilla-La Mancha y Madrid.

| Raza y biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón | Tabaco | Cacahuete "Florunner" |
|----------------------|-------------------------|---|-----------------------|---|---------|--------|--------------------------|
| | S | R | S | R | "DP61" | "NC95" | " |
| <i>M. arenaria</i> | | | | | | | |
| 2 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - |
| <i>M. incognita</i> | | | | | | | |
| 1 tomate | + | - | + | - | - | - | - |
| 1 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | - | - |
| 1 pimiento | + | + | + | - | - | - | - |
| 1 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | - | - |
| 2 tomate | + | - | + | - | - | + | - |
| 2 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - |
| 2 pimiento | + | + | + | - | - | + | - |
| 2 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - |
| 3 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | + | - | - |
| 3 pimiento | + | + | + | - | + | - | - |
| 3 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | - | - |
| 4 pimiento | + | + | + | - | + | + | - |
| 4 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | + | - |
| 6 tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + | - |

⁽¹⁾Pimiento S: Susceptible cv "Sonar"; R: Resistente cv "Atlante"; ⁽²⁾Tomate S: Susceptible cv "Marmande"; R: Resistente cvs "Euphrates" y "Nikita". Sandía cv "Charleston Grey" resultó siempre positiva.

Los resultados de la caracterización de las poblaciones encontradas en Castilla-La Mancha y Madrid se recogen en el Tabla 4.141, donde podemos observar que **están representadas las cuatro razas de *M. incognita*, apareciendo biotipos que son capaces de parasitar tanto a los pimientos resistentes como a tomates portadores del gen *Mi* de resistencia** (ROBERTSON *et al.* 2006). Se han encontrado en Talavera de la Reina (Toledo) y Villa del Prado (Madrid) la nueva raza *M. incognita* 6 tomate *Mi* que parasita a tabaco NC95 pero no a pimiento y algodón DP61, aunque sí parasita a tomate portador de gen *Mi* (ROBERTSON *et al.* 2009). Por ello, la raza 6 descrita por TORRES *et al.* (2007) que parasita al tabaco cv "NC 95" y al algodón cv "Deltapine 61", correspondería a una nueva raza 7.

Se encontró también en viñedos de Quero (Toledo) y Socuéllamos (Ciudad Real) mezcla de poblaciones de *M. arenaria* de la raza 3, capaz de parasitar a pimiento y *M. incognita*, lo que puede dar lugar a que cuando se encuentre la raza 3 de *M. incognita* las poblaciones de campo se comporten como la raza 4 de *M. incognita*, un biotipo altamente virulento que es capaz de parasitar algodón y tabaco, pudiendo además producir infección en raíces de los cultivares de

pimientos resistentes cvs “Carolina Wonder” y “Charleston Belle”, e incluso a tomate cvs “Euphrates” y “Nikita” portadores del gen *Mi* de resistencia a *M. incognita* (Tabla 4.141). En las poblaciones de campo puede estar presente la raza 2 de *M. incognita*, aunque puede ser mezcla con *M. arenaria* raza 2. **La gran diversidad de biotipos encontrados en Castilla-La Mancha y Madrid dificulta que se puedan utilizar variedades resistentes en el manejo de nematodos del género *Meloidogyne* resulte eficaz.**

En Villa del Prado (Madrid) se ha encontrado ***M. arenaria* raza 2 tomate *Mi*** que se puede considerar el resultado de la selección por el uso de variedades de tomate portadoras del gen *Mi*, aunque pueden existir poblaciones mixtas con *M. incognita*. Se considera *M. arenaria* como la especie más representativa de la región, especialmente el biotipo ***M. arenaria* 2 tomate *Mi***, que aparece frecuentemente asociado a los viñedos, siendo fundamental tenerlos en cuenta en los procesos de reconversión a otros cultivos, especialmente a los hortícolas de regadío puesto que pueden presentarse problemas graves e influir en el rendimiento de los cultivos si no se conocen sus características agroecológicas para poder diseñar alternativas. Se ha encontrado sobre calabacín cv “Golden”, bajo invernadero en la Estación Experimental de Marchamalo (Guadalajara), habiendo sido confirmado por métodos de biología molecular que pertenece al **biotipo 2 tomate *Mi***, que no es capaz de parasitar pimiento y batata cv “TIS 3290”, pero sí a tomates resistentes portadores del gen *Mi*, por lo que **la utilización de variedades resistentes de tomate pueden inducir a la selección de *M. arenaria***. Por la presión del cultivo de pimiento cv “California Wonder” aparecen tres plantas con índices de nodulación inferiores a 2, aunque cuando esto ocurre se pueden utilizar el injerto con pimiento resistente, así como tener en cuenta que la población puede tener mezcla con poblaciones de *M. incognita*, se debe destacar que parasita a tabaco, por lo que las plantas que se utilizan para el desarrollo de insectos antagonistas puede ser un buen indicador de la presencia de las especies. El biotipo 2 tomate *Mi* también se ha encontrado sobre calabacín, pepino y tomate en Marchamalo (Guadalajara) (LÓPEZ-PÉREZ *et al.* 2010).

Se encontró también en un cultivo de tomate bajo invernadero de Villa del Prado (Madrid), cuando se aísla a partir de raíces de tabaco para separar poblaciones puras, puesto que están junto con poblaciones de *M. incognita*, que se trata del **biotipo 2 tomate *Mi***.

En viñedos de Membrilla (Ciudad Real), donde se ha realizado la biodesinfección de suelos con vinazas de remolacha y vino, se ha encontrado ***M. arenaria* 2 tomate *Mi*** con poblaciones muy bajas, índices de nodulación inferior a 2, llama la atención que no se hayan seleccionado biotipos capaces de parasitar a pimiento, pero sí a la brásica cv “Contra” que se suele utilizar

como biodesinfectante sólo aparece una única vez en un pimiento cv “California Wonder” con un índice (1).

En los viñedos muestreados en la localidad de Quero (Toledo), encontramos que al comienzo del experimento en la Bandeja 148 aparecen en la mayoría de los pimientos cv “Sonar” alcanzando índice (4), habiéndose confirmado que se trata de *M. arenaria*, incluso un pimiento cv “Atlante” portador de resistencia presentó índice (1), en el que se confirmó que era *M. arenaria* también por biología molecular, pero posteriormente desaparece la virulencia en la mayoría de las poblaciones, que por tratarse de poblaciones de campo debería confirmarse la posible presencia de poblaciones de *M. incognita*, por ello consideramos que están presentes los dos biotipos: **2 tomate *Mi*** y **3 tomate *Mi***. En la Bandeja 185 sólo está presente el biotipo 2 tomate *Mi*.

En Socuéllamos (Ciudad Real) en la parcela que sirvió para los experimentos de biodesinfección con vinazas de remolacha y vino, aparecen por lo general poblaciones avirulentas a pimiento de *M. arenaria* **2 tomate *Mi*** pero al repetir el experimento con pimiento cv “California Wonder” encontramos una planta con índice (2) y el pimiento cv “Atlante” presenta una planta con índice (2) confirmándose por biología molecular que se trata de *M. arenaria*, por lo que podría considerarse que están presentes los **biotipos 3 tomate y pimiento *Mi***. Se encontró también que esta población parasita a la brásica cv “Contra” que se suele utilizar como biodesinfectante.

En el viñedo de Tomelloso, en la Bandeja 175, las poblaciones de los experimentos de los años 2007 y 2008 parasitan pimiento cv “Sonar”, por lo que se considera **biotipo 3 tomate *Mi***, pero también aparecen plantas de pimiento cv “Atlante” con índice (3), por lo que se considera también la presencia del biotipo 3 pimiento *Mi*. En la Bandeja 207 llegó a parasitar al pimiento susceptible cv “California Wonder” con un índice (8), por lo que se considera como biotipo **3 pimiento *Mi***. Por otro lado, también se ha citado *M. arenaria* sobre remolacha en Alcázar de San Juan (Ciudad Real) por CENIS *et al.* (1992), posteriormente ARIAS *et al.* (1997) la citan sobre vid en Belmonte (Cuenca), recientemente LÓPEZ-PÉREZ *et al.* (2010) la encuentran sobre judía y pimiento en Malpica del Tajo y *Vicia sativa* en Las Vegas del Tajo (Toledo). Se considera que pueden pertenecer a *M. arenaria* las citas de *Meloidogyne* spp. sobre tabaco en Talavera de la Reina (Toledo) y Las Vegas (Madrid) de JIMÉNEZ-MILLÁN *et al.* (1965), así como las citas de ARIAS *et al.* (1997) sobre vid en Villarrobledo (Albacete), Alambra, Campo de Criptana, Fuente el Fresno, Manzanares, Pedro Muñoz, Tomelloso, Torralba de Calatrava y Villarrubia de los Ojos (C. Real), Cabañas de Yepes, Mora y Tembleque (Toledo) y Las Pedroñeras (Cuenca).

M. incognita es la especie más frecuente y está ampliamente distribuida en la región, fue la primera que se citó como *Heterodera marioni* por CAÑIZO & RODRÍGUEZ-SARDIÑA (1926) y DOMÍNGUEZ-GARCÍA TEJERO (1951, 1957) sobre remolacha. JIMÉNEZ MILLÁN *et al.* (1965) la citan sobre pimiento en Alcalá de Henares (Madrid), calabaza, *Cichorium endivia*, *Lactuca sativa*, *Portulaca oleracea* y tomate en Guadarrama (Madrid), sobre *P. oleracea* en Aldea del Fresno (Madrid), *Solanum lycopersicum* en Arcicóllar (Toledo). HOYOS *et al.* (2004) la citan sobre *Cucumis pepo* y *C. sativus* cv “Serena” y *Curcubita maxima* en Marchamalo (Guadalajara), por último LÓPEZ-PÉREZ *et al.* (2004) sobre *Beta vulgaris* var. *cycla* y *Cucumis sativus* cv “Serena” en Villa del Prado (Madrid), BELLO *et al.* (1997b) sobre *Capsicum annuum* en Alcalá de Henares (Madrid), BELLO *et al.* (1989) sobre vid en Socuéllamos (Ciudad Real); BELLO *et al.* (2004b) sobre *C. annuum* en Talavera de la Reina (Toledo). Por otro lado, ROBERTSON *et al.* (2006) señalan los **biotipos 1 pimiento, 2 pimiento, 3 pimiento Mi** y **4 pimiento Mi** en La Fuensanta (Albacete) sobre pimiento y ROBERTSON *et al.* (2009) describen la **raza 6 sobre patata** en Talavera de la Reina (Toledo) y sin indicar la planta hospedadora en Villa del Prado (Madrid), la raza 6 del trabajo de TORRES *et al.* (2007) pertenecería a una nueva raza 7.

En nuestro estudio hemos caracterizado la virulencia de las poblaciones encontradas en Marchamalo (Guadalajara), Talavera de la Reina (Toledo), Villa del Prado (Madrid) y La Fuensanta (Albacete). En la localidad de Marchamalo (Guadalajara), en los invernaderos pertenecientes al Centro Agrario de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, las poblaciones pertenecientes a la publicación de LÓPEZ PÉREZ *et al.* (2010) de calabacín cv “Milenio” se ha encontrado ***M. incognita* 1 tomate Mi**, que no parasita pimiento cv “Atlante”, pero sí a los tomates resistentes, lo mismo ocurre con el cv “Golden” (Bandeja 109R), en el caso de la Bandeja 115 se ha encontrado el **biotipo 1 tomate** y en las Bandejas 152 y 187R el **biotipo 1 tomate Mi**. Las poblaciones de *M. incognita* de los invernaderos experimentales de Marchamalo (Guadalajara) pertenecen al **biotipo 1 tomate Mi**, aunque pueden aparecer poblaciones avirulentas del **biotipo 1 tomate** (Bandeja 115).

En las poblaciones de *M. incognita* estudiadas en Talavera de la Reina (Toledo) sobre muestras de patata, se aísla la población utilizada por ROBERTSON *et al.* (2009) para describir la nueva **raza 6 de *M. incognita***, que se caracteriza por no parasitar a pimiento, aunque algunas plantas presentan nódulos pero sin masas de huevos y al final, después de siete años, algunos presentan índices inferiores a (3), parasita a tabaco y a los tomates portadores del gen *Mi*, así como a la bráscica cv “Contra” que se suele utilizar como biofumigante, parasita a *Tagetes patula*, fresa y batata cv “3290”.

En Villa del Prado (Madrid) se ha estudiado una población de pepino, acelga y dos de higuera, resultando el **biotipo 1 tomate de *M. incognita***, que indica que las poblaciones originales son avirulentas y mediante el empleo de variedades resistentes se puede seleccionar ***M. arenaria 2 tomate Mi* o *M. incognita 1 tomate Mi***. Las poblaciones de la Bandeja 63 pertenecen al **biotipo 1 tomate**, se caracteriza fundamentalmente por no parasitar tomate portador del gen *Mi* de resistencia, además **se sometió a 30 °C durante varias semanas (20-04-05 al 4-09-06) y no se produce rotura de resistencia**, no parasita a *T. patula*, al pimiento resistente cv “Atlante” ni a las batatas cvs “3290” y “9162”.

Las poblaciones sobre pimiento de La Fuensanta (Albacete) se caracterizan por parasitar a tabaco y no parasitan a tomate resistente aunque se sometió a temperaturas superiores a 30 °C durante cuatro meses, por ello se considera que pertenecen a la **raza 2 biotipo tomate**, aunque fue capaz de parasitar al pimiento cv “Atlante” con un índice (1) y tener una masa de huevos de color castaño, por lo que pertenecen a ***M. incognita 2 pimiento***.

Llama la atención que la mayor parte de las plantas parasitadas por *M. incognita* corresponden a cultivos hortícolas, acelga, endivia, cucurbitáceas, lechuga, patatas y pimiento, habiéndose confirmado sobre vid de Socuéllamos (C. Real) la cita de BELLO *et al.* (1989), así como las citas anteriores de CAÑIZO & RODRÍGUEZ-SARDIÑA (1926) y DOMÍNGUEZ-GARCÍA TEJERO (1951, 1957) sobre remolacha.

Los nematodos del género *Meloidogyne* han sido frecuentemente encontrados en la región desde que CAÑIZO & RODRÍGUEZ-SARDIÑA (1926) lo señalarán en remolacha de Toledo (Capital), especialmente en el trabajo de JIMÉNEZ-MILLÁN *et al.* (1965) quienes lo encuentran principalmente en hortícolas, higuera, tabaco, así como plantas adventicias en las provincias de Madrid y Toledo, en viñedos de Albacete, Ciudad Real, Cuenca y Toledo por ARIAS *et al.* (1997). Se deberían confirmar las citas en avena y cebada por SÁNCHEZ y BELLO (1984).

4.5.3. Extremadura

Se ha elegido esta región para poder definir el efecto que tiene el monocultivo del tabaco en la selección de *M. arenaria*, pero sobre todo la influencia del cultivo de pimiento para la selección de la raza 3 de *M. arenaria* y sus biotipos (Tabla 4.142). Las especies predominantes son *M. arenaria*, especialmente en tabaco, seguido por cultivos hortícolas como cucurbitáceas, tomates y en menor medida pimientos y zanahoria, se ha encontrado también sobre higuera, vid y maíz. La mayor frecuencia corresponde a *M. incognita*, fundamentalmente en tomate, tabaco, melón y otras cucurbitáceas, pimiento, patatas, maíz,

brasicas y en árboles frutales como diferentes especies de *Prunus*, higuera y nogal. **Por último *M. javanica*, que está muy localizada fundamentalmente en Badajoz** sobre tomate y maíz, aunque hay una cita en tabaco. Las citas a nivel del género *Meloidogyne* spp. corresponden acelgas, alfalfa, algodón, plantas del género *Allium*, endivias, judías, melocotonero, nabos, remolacha, sandía y plantas adventicias. Se estudio una población del cultivo de tabaco en Talayuela de la Vera (Cáceres) encontrando que pertenece a ***M. arenaria* raza 3 tomate *Mi* y pimiento *Mi***, debiéndose destacar que no parasita a algodón, lo que es importante como alternativa de rotación, así como *T. patula*, batatas “3290” y “9162”, judía “Nema Snap”. **Parasita tabaco, que actúa seleccionando *M. arenaria***; en relación al pimiento resistente cv “Atlante”, son dos poblaciones capaces de parasitar a tres plantas con un índice (1).

Tabla 4.142. Poblaciones del género *Meloidogyne* en Extremadura.

| Raza y biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón “DP61” | Tabaco “NC95” | Cacahuete “Florunner” |
|-----------------------------|-------------------------|---|-----------------------|---|-------------------|------------------|--------------------------|
| | S | R | S | R | | | |
| <i>M. arenaria</i> | | | | | | | |
| 3 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - |
| 3 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - |

(1)Pimiento S: Susceptible cv “Sonar”; R: Resistente cv “Atlante”; (2) Tomate S: Susceptible cv “Marmande”; R: Resistente cvs “Euphrates” y “Nikita.

Las otras poblaciones estudiadas corresponden a muestras de tabaco de Losar de la Vera (Cáceres), se caracterizan por parasitar tanto a tomate y pimiento susceptible como pimientos resistentes cv “Atlante”, aunque el índice no fue superior a (4). Se destaca que no parasita a la batata “3290” y de forma variable a la batata “9162”, no parasitando a *T. patula* y a la judía “Nema Snap”.

4.5.4. Murcia

Los nematodos del género *Meloidogyne* constituyen un problema grave en la región de Murcia, especialmente en las zonas hortícolas, estando presentes las tres especies siguientes: *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*, que están representadas por varios biotipos (Tabla 4.143). Existen varias citas a nivel de género por DOMÍNGUEZ-GARCÍA TEJERO (1951, 1957) sobre remolacha, que fue realizado a nivel de provincia, JIMÉNEZ-MILLÁN *et al.* (1964) sobre membrillo y peral en Pueblo Nuevo, así como vid de Abarán, posteriormente ORTUÑO *et al.* (1969) lo citan sobre el género *Citrus* sp. en la Huerta de Murcia, aunque esta referencia debe ser confirmada, porque es muy poco frecuente sobre ese cultivo. CENIS (1985) lo encuentra sobre apio en San Javier y posteriormente CENIS (1987) sobre lechuga en San Javier y Torre

Pacheco, así como *Prunus dulcis* en Águilas y *P. persica* en Abarán y La Alberca. La especie *M. arenaria* está muy localizada sobre apio en San Pedro del Pinatar (ESCUER *et al.* 2004), melocotonero en la provincia de Murcia (CENIS *et al.* 1992) que no han podido ser confirmadas, encontrándose en la zona del interior en los viñedos de Jumilla representada por el biotipo *M. arenaria 2 tomate Mi*, que resulta ser también el biotipo más frecuente en los viñedos de Castilla-La Mancha, con unas características climáticas similares.

***M. incognita* es la especie más frecuente sobre todo en los cultivos de pimiento de El Campo de Cartagena, habiéndose encontrado el biotipo 1 tomate, que es avirulento tanto a los pimientos como a los tomates resistentes en la localidad de San Javier en El Campo de Cartagena, aunque después de cinco años de cultivo experimental se comienza a seleccionar poblaciones virulentas a pimiento resistente cv “Atlante” (C25).** Se están seleccionando varios cultivares de pimientos que pueden actuar como portainjertos resistentes “M1”, “M2”, “DROP”, “Carolina Wonder”, “Charleston Bell” y “C28” así como diferentes cvs de tomate, “Euphrates”, “Nikita” y “Durán” y entre las batatas cv “TIS 3290”. En las poblaciones de Los López, EL Mirador (San Javier, San Pedro del Pinatar, Campo de Cartagena) se encuentra un fenómeno similar, **con poblaciones en los primeros años avirulentas a pimientos** cvs “Chile Piquín”, “Carolina Wonder”, “Charleston Bell”, “Nemaheart”, “C50”, “Atlante”, que van seleccionando poblaciones virulentas tanto para pimiento como para tomate resistente, habiéndose encontrado sucesivamente los biotipos *M. incognita 1 tomate, tomate Mi* y *pimiento Mi*, algunas poblaciones resultan avirulentas para clavel cv “Exótica” y el cultivo de fresón, cuando se someten a 30 °C no se produce rotura de resistencia con el incremento de la temperatura. Se estudió otra población de tomate de Mazarrón encontrando que se han seleccionado poblaciones virulentas a tomate resistente, *M. incognita 1 tomate Mi*. En las poblaciones de la Bandeja 69 con muestras de Los López, El Mirador, San Javier (San Pedro del Pinatar, Campo de Cartagena) se han seleccionado poblaciones que parasitan a pimiento resistentes introducidos de Guatemala, encontrando además que parasitan a pimiento cv “Atlante” (C25) resistente y tomate cv “Nikita” resistente, que con el tiempo se vuelven avirulentas para el tomate cv “Nikita”, siendo altamente susceptibles los tomates resistentes cv “Euphrates”. Las poblaciones se consideran pertenecientes a *M. incognita 2 pimiento Mi*, comportándose también como resistente la batata “3290” y la judía “Nema Snap”, siendo altamente susceptible la brasic cv “Escala”, que se utiliza como abono verde en biofumigación.

En los cultivos de tomate de Águilas y Mazarrón, se encuentra mezcla de *M. incognita 1 tomate Mi* y *M. javanica 1 tomate Mi* que se comporta como *M. incognita 2 tomate Mi*, que resulta avirulenta para fresa, *T. patula* y judía “Nema Snap”. Por otro lado, las

poblaciones de Águilas corresponden a *M. incognita* 4 tomate *Mi*, capaces de parasitar tanto a algodón DP61 como a tabaco NC95, pero no parasitan pimiento resistente cv “Atlante” (C25) y al cacahuete cv “Florunner” (Tabla IV.143). Por último *M. javanica* que se ha encontrado en la zona de Águilas, La Alberca y Mazarrón que pertenecen al biotipo *M. javanica* 1 tomate *Mi* que es capaz de parasitar a tomate resistente pero no a los pimientos, aunque por lo general se encuentra en poblaciones mezcladas con *M. incognita*.

Tabla IV.143. Poblaciones del género *Meloidogyne* en Murcia.

| Raza y biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón “DP61” | Tabaco “NC95” | Cacahuete “Florunner” |
|----------------------|-------------------------|---|-----------------------|---|-------------------|------------------|--------------------------|
| | S | R | S | R | | | |
| <i>M. arenaria</i> | | | | | | | |
| 2 tomate <i>Mi</i> | – | – | + | + | – | + | – |
| <i>M. incognita</i> | | | | | | | |
| 1 tomate | + | – | + | – | – | – | – |
| 1 tomate <i>Mi</i> | + | – | + | + | – | – | – |
| 1 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | – | – | – |
| 2 tomate <i>Mi</i> | + | – | + | + | – | + | – |
| 2 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | – | + | – |
| 4 tomate <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | + | – |
| <i>M. javanica</i> | | | | | | | |
| 1 tomate <i>Mi</i> | – | – | + | + | – | + | – |

(1)Pimiento S: Susceptible cv “Sonar”; R: Resistente cv “Atlante”; (2) Tomate S: Susceptible cv “Marmande”; R: Resistente cvs “Euphrates” y “Nikita”.

Se han sometido las poblaciones de un invernadero experimental a la presión de pimientos cv “Atlante” resistente, habiéndose conseguido que una población avirulenta, *M. incognita* 1 tomate (Bandeja 56A) se transforme en poblaciones virulentas a pimiento, *M. incognita* 1 pimiento *Mi* (Bandeja 56B, 56C, 164 y 189), así como a tomates resistentes.

Por lo general, las especies encontradas del género *Meloidogyne* plantean problemas en los cultivos hortícolas de la región de Murcia, así como en frutales y viñedos, encontrándose en la zona litoral *M. javanica* especialmente en Águilas, La Alberca y Mazarrón, que no parasita a pimientos, pero si a tomates resistentes, biotipo 1 tomate *Mi*, que por lo general aparece conjuntamente con *M. incognita*, comportándose como *M. incognita* 2 pimiento *Mi*. En El Campo de Cartagena predomina la especie *M. incognita*, habiéndose seleccionado el biotipo 1 pimiento *Mi*. En el interior, en los viñedos de Jumilla se ha confirmado la presencia de *M. arenaria* 2 tomate *Mi*, que no parasita a pimientos. Nos llama la atención la cita de *Meloidogyne* sp. en los cultivos de

cítricos en la Huerta de Murcia por ORTUÑO *et al.* (1969) que debe confirmarse, siendo de interés su referencia sobre frutales de hueso que pueden actuar como foco de infección para los cultivos hortícolas.

En Murcia la especie más frecuente es *M. incognita*, principalmente en El Campo de Cartagena en las localidades de El Mirador (San Pedro del Pinatar), produciendo problemas graves en pimiento, aunque la población de campo suele ser avirulenta a tomate resistente portador del gen *Mi*, correspondiendo al biotipo 1 tomate, llegándose a seleccionar en el laboratorio el biotipo 1 tomate *Mi*, lo que ocurre en campo con el cultivo de variedades resistentes de tomates portadores del gen *Mi*, encontrándose los biotipos 1 pimiento, 1 pimiento *Mi* y 2 pimiento, 2 pimiento *Mi*. Por otro lado, en la zona de cultivo de tomates de Águilas y Mazarrón encontramos mezcla de poblaciones de *M. incognita* y *M. javanica*, habiéndose caracterizado en Águilas *M. incognita* biotipo 4 tomate *Mi*, que es altamente virulenta a tomates resistentes, así como al algodón y el tabaco. En Mazarrón se ha caracterizado *M. javanica* biotipo 1 tomate *Mi*, que no parasita pimiento y puede utilizarse en los sistemas de rotación, así como en Águilas y La Alberca. En “La Huerta” las poblaciones del género *Meloidogyne* son frecuentes, tanto en cultivos hortícolas como en frutales. Por último, en el interior, en la zona de los viñedos de Jumilla, se ha encontrado *M. arenaria* 2 biotipo tomate *Mi*, que no parasita a pimiento (Tabla 4.139).

4.5.5. Comunidad Valenciana

Los resultados de la caracterización de las poblaciones encontradas en El Perelló (Valencia), se recogen en el Tablas 4.144, 4.145 donde podemos observar que se encontraron *M. incognita* 1 tomate, 1 tomate *Mi*, 1 pimiento, 1 pimiento *Mi*, 2 tomate *Mi*, 3 tomate *Mi*, 3 pimiento y 5 tomate *Mi*. Se estudia el comportamiento de *M. incognita* raza 2, que presentan biotipos que son capaces de parasitar tomates portadores del gen *Mi* de resistencia pero no a los pimientos resistentes que pueden utilizarse en la rotación de cultivos.

Según el Test de de Hospedadores de HARTMAN & SASSER (1985), las poblaciones estudiadas en El Perelló (Valencia) pertenecen a *M. incognita* raza 2, que son capaces de parasitar a tabaco cv “NC95” y Sandía cv “Charleston Grey”; pero no algodón “DP61”, perteneciendo al biotipo tomate *Mi*, puesto que pueden parasitar también a los tomates portadores del gen *Mi* de resistencia (Tabla 4.144). Recientemente se ha caracterizado la presencia de *M. incognita* 4 tomate *Mi*.

Tabla 4.144. Comportamiento de *M. incognita* 2 tomate *Mi* en El Perelló (Valencia).

| Profundidad | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón | Tabaco | Cacahuete |
|-------------|-------------------------|---|-----------------------|---|---------|--------|-------------|
| | S | R | S | R | “DP61” | “NC95” | “Florunner” |
| 0-20 cm | + | - | + | + | - | + | - |
| >20 cm | + | - | + | + | - | + | - |

(1) S: Susceptible, cv “Sonar”; R: Resistente, cv. “Atlante”; (2) S: susceptible, cv. “Marmande”; R: Resistente cv “Euphrates” y “Nikita”. Tratamiento 1=1 l/m²; Tratamiento 2= 2 l/m² de vinaza de vino.

Se ha encontrado también poblaciones de *M. incognita* 1 tomate *Mi*, 1 tomate *Mi*, 2 tomate *Mi*, 2 pimiento *Mi*, 3 tomate *Mi*, 3 pimiento *Mi*, y 4 pimiento *Mi*, así como poblaciones avirulentas para tomates resistentes *M. incognita* 1 tomate, 1 pimiento, 2 tomate, 3 pimiento, 4 tomate, 4 pimiento que son bastante frecuentes y la nueva raza *M. incognita* 5 tomate *Mi* (ROBERTSON *et al.* 2009) que sólo parasita a tomates susceptibles y portadores de genes de resistencia (Tablas 4.145 y 4.146).

Tabla 4.145. Poblaciones de *Meloidogyne* estudiadas en la C. Valenciana.

| Bandejas | Muestra, cultivo y localidad | Especie, raza y biotipo |
|----------|--|--|
| 1 (27R) | El Perelló, Valencia (Cur) | <i>M. incognita</i> 1 tomate, 1 tomate <i>Mi</i> , 1 pimiento & 1 pimiento <i>Mi</i> |
| 3 | 21.018 & 21.019 col, Llutxent (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate |
| 5B | 18.467 tomate Nikita, Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 1 pimiento <i>Mi</i> & 2 pimiento <i>Mi</i> |
| 5R | 18.591-18.595 tomate Nikita, Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate, 1 pimiento <i>Mi</i> & 2 pimiento <i>Mi</i> |
| 6C | 18.366 tomate Nikita, Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 6R | 18.366 tomate Nikita, Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 1 pimiento <i>Mi</i> |
| 7R | 21.020 suelo, Paiporta (V) | <i>M. incognita</i> 3 tomate <i>Mi</i> |
| 8 | 18.586-90 suelo, Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 11 | 21.057-62 suelo, Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 3 pimiento |
| 12R | 21.046 pimiento, Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 3 pimiento & 3 pimiento <i>Mi</i> |
| 22R | 22.386 viña, Villena (A) | <i>M. incognita</i> 3 pimiento <i>Mi</i> , 4 pimiento & 4 pimiento <i>Mi</i> |
| 27R(1) | suelo Inv. 3 (Cur), El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate |
| 36 | 23.796-98 pimiento, Pilar de la Horadada (A) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 38R | 23.824 tomate Valencia, Alboraya (V) | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> |
| 51 | 24.451-53 chirivía, Villena (A) | <i>M. incognita</i> 3 pimiento & 3 pimiento <i>Mi</i> |
| 51R(51) | 24.451 chirivía, Villena (A) | <i>M. incognita</i> 3 pimiento, 3 pimiento <i>Mi</i> & 4 pimiento <i>Mi</i> |
| 52 | 24.447-50 tomate, Villarreal (Cs) | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> |
| 62 | 24.657-58 puerro, Villena (A) | <i>M. incognita</i> 3 pimiento & 3 pimiento <i>Mi</i> |
| 64 | 15.012 tomate, El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate |
| | 15.565 alcachofa, Benicarló (Cs) | <i>M. incognita</i> 2 tomate |
| 66 | 16.330 & 15.841 Mareny de Barraquetes & El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 74 | 34.872-73 suelo, L’Alcudia, Alginet (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> y 2 pimiento <i>Mi</i> |
| 79 | 26.188 & 90 pimiento, Mareny Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 1 pimiento & 2 tomate |
| 116 | 27.744-47 & 27.788-97 suelo Inv., Exp. □IRF., El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 138 | 28.455 tomate, El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> |
| 150 | Suelo (Em) (0-20 cm), El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> |
| 151 | Suelo (Em) (20-40 cm), El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 2 tomate <i>Mi</i> |
| 153 | 28.876-78 suelo, Villena (A) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> |

Tabla 4.145 (continuación). Poblaciones de *Meloidogyne* estudiadas en la C. Valenciana.

| Bandejas | Muestra, cultivo y localidad | Especie, raza y biotipo |
|-------------|--|--|
| 154R(179) | 28.168-69 & 28.173 vid, La Romana (A) | <i>M. incognita</i> 4 pimiento <i>Mi</i> |
| 179(154) | Viene de tabaco 154, La Romana (A) | <i>M. incognita</i> 4 pimiento <i>Mi</i> |
| 179R(154) | Viene de algodón 179, La Romana (A) | <i>M. incognita</i> 4 pimiento <i>Mi</i> |
| 180R(154) | Viene de algodón 154, La Romana (A) | <i>M. incognita</i> 4 pimiento <i>Mi</i> |
| 180AR(180R) | Viene de algodón 180R, La Romana (A) | <i>M. incognita</i> 4 pimiento & 4 pimiento <i>Mi</i> |
| 180TR(180R) | Viene de tabaco 180R, La Romana (A) | <i>M. incognita</i> 4 tomate & 4 pimiento <i>Mi</i> |
| 212 | 29.927-32 suelo, El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> |
| 228 | Exp. Vincent, El Perelló (V) | <i>M. incognita</i> 3 tomate <i>Mi</i> (C) |
| M8R | Suelo túnel 3 termopar, El Perelló (V) (Cur) | <i>M. incognita</i> 5 tomate <i>Mi</i> |
| M9 | 18.467 tomate Nikita (JM), Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> & 5 tomate <i>Mi</i> |
| M10 | 18.586-90 suelo (JM), Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 5 tomate <i>Mi</i> |
| M11 | 18.467 tomate Nikita (JM), Mareny de Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 5 tomate <i>Mi</i> |
| M13 | 18.586-90 suelo (JM), Mareny Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 5 tomate <i>Mi</i> |
| M13C | 18.586-90 suelo (JM), Mareny Barraquetes (V) | <i>M. incognita</i> 1 tomate <i>Mi</i> , 1 pimiento <i>Mi</i> & 5 tomate <i>Mi</i> |

Tabla 4.146. Biotipos encontrados en la Comunidad Valenciana.

| Raza & biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón "DP61" | Tabaco "NC95" |
|-----------------------------|-------------------------|---|-----------------------|---|-------------------|------------------|
| | S | R | S | R | | |
| | | | <i>M. arenaria</i> | | | |
| 2 tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + |
| | | | <i>M. incognita</i> | | | |
| 1 tomate | + | - | + | - | - | - |
| 1 pimiento | + | + | + | - | - | - |
| 1 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | - |
| 1 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | - |
| 2 tomate | + | - | + | - | - | + |
| 2 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + |
| 2 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + |
| 3 tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | + | - |
| 3 pimiento | + | + | + | - | + | - |
| 3 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | - |
| 4 tomate | + | - | + | - | + | + |
| 4 pimiento | + | + | + | - | + | + |
| 4 pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | + |
| 5 tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | - |

(1) S: Susceptible, cv "Sonar"; R: Resistente, cv. "Atlante". (2) S: susceptible, cv. "Marmande"; R: Resistente cv "Euphrates" y "Nikita".

4.5.6. Poblaciones y biotipos de *Meloidogyne* estudiados con descripción de otras poblaciones no descritas anteriormente

Los resultados de la caracterización de unas 257 poblaciones de todo el mundo y especialmente de Almería, Castilla-La Mancha, Extremadura, Murcia, Comunidad Valenciana así como de otras poblaciones no incluidas en estas comunidades, que se agrupan por especies en el y por poblaciones que forman parte de la Colección del antiguo Departamento de

Agroecología del Centro de Ciencias Medioambientales y que se recogen en la Tabla 4.147, que están representadas por las especies *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica*, con una gran diversidad de razas y biotipos que hacen muy difícil la utilización de variedades resistentes como alternativa de control, habiéndose encontrado sólo una cierta estabilidad en el caso de *M. javanica*, que en las poblaciones de nuestro país se pueden utilizar diferentes variedades de pimientos como alternativa de manejo en los sistemas de rotación, aunque su empleo reiterado da lugar a la selección de otras especies en un corto período de tiempo, lo que nos lleva a la **necesidad de utilizar criterios agronómicos para regular las poblaciones de nematodos en los sistemas de producción, mediante el manejo armónico de la diversidad, tanto biológica como ambiental.**

Además, se describen las poblaciones de *M. arenaria* 1 tomate *Mi* de la localidad de Majoreras (El Ingenio, Gran Canaria) que ha sido descrita en la tesis doctoral de J. LÓPEZ-CEPERO (2009), así como las poblaciones de *M. hapla* A y B que no han sido encontradas en las Comunidades estudiadas anteriormente, así como *M. incognita* 2 tomate *Mi*, 4 tomate, 4 tomate *Mi* y 4 pimiento *Mi* de Tacuarembó (Uruguay) que no son frecuentes en nuestro país. Por último, se recogen las poblaciones de Canarias descritas por LÓPEZ-CEPERO (2009) de *M. incognita* 7 tomate *Mi* de Tuineje (Fuerteventura) y *M. javanica* 1 tomate *Mi* y *M. javanica* 5 tomate *Mi* de Los Moriscos (Arico) (ROBERTSON *et al.* 2009). Se deben de tener en cuenta también las poblaciones de *M. incognita* 1 tomate (El Perelló, Valencia), 1 pimiento (Ibiza), 2 tomate (La Fuensanta, Albacete), 3 tomate (Paiporta, Valencia), 3 pimiento (Mareny de Barraquetes, Valencia) y 4 tomate *Mi* (Águilas, Murcia). En la Tabla 4.147 se recogen todos los biotipos y razas de la Colección del antiguo Departamento de Agroecología del Centro de Ciencias Medioambientales. No se han encontrado en nuestro país las razas 2, 3 y 4 de *M. javanica*, que se presentan en la introducción del capítulo 4.5 en la Tabla 4.136.

Tabla 4.147. Caracterización de poblaciones del género *Meloidogyne* en España (HARTMAN & SASSER 1985, ROBERTSON *et al.* 2006, 2009, TORRES *et al.* 2007).

| Raza | Biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón “DP61” | Tabaco “NC95” | Cacahuete “Florunner” | Sandía Ch. Grey ⁽³⁾ | <i>T. patula</i> ⁽⁴⁾ |
|--------------------------------|--------------------|-------------------------|---|-----------------------|---|-------------------|------------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| | | S | R | S | R | | | | | |
| <i>M. arenaria</i> | | | | | | | | | | |
| 1 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | + | + | - |
| 2 | tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 3 ⁽⁵⁾ | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 3 ⁽⁵⁾ | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - | + | - |
| <i>M. hapla</i> ⁽⁶⁾ | | | | | | | | | | |
| A | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | + | - | - |
| B | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | + | - | -/+ |

Tabla 4.147 (continuación). Caracterización de poblaciones del género *Meloidogyne* en España (HARTMAN & SASSER 1985, ROBERTSON *et al.* 2006, 2009, TORRES *et al.* 2007).

| Raza | Biotipos | Pimiento ⁽¹⁾ | | Tomate ⁽²⁾ | | Algodón “DP61” | Tabaco “NC95” | Cacahuete “Florunner” | Sandía Ch. Grey ⁽³⁾ | <i>T.</i> <i>patula</i> ⁽⁴⁾ |
|---------------------|-----------------------|-------------------------|----|-----------------------|----|-------------------|------------------|--------------------------|-----------------------------------|---|
| | | S | R | S | R | | | | | |
| <i>M. incognita</i> | | | | | | | | | | |
| 1 | tomate | + | - | + | - | - | - | - | + | - |
| 1 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | - | - | + | - |
| 1 | pimiento | + | + | + | - | - | - | - | + | - |
| 1 | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | - | - | + | - |
| 2 | tomate | + | - | + | - | - | + | - | + | - |
| 2 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 2 | pimiento | + | + | + | - | - | + | - | + | - |
| 2 | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | - | + | - | + | - |
| 3 | tomate | + | - | + | - | + | - | - | + | - |
| 3 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | + | - | - | + | - |
| 3 | pimiento | + | + | + | - | + | - | - | + | - |
| 3 | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | - | - | + | - |
| 4 | tomate | + | - | + | - | + | + | - | + | - |
| 4 | tomate <i>Mi</i> | + | - | + | + | + | + | - | + | - |
| 4 | pimiento <i>Mi</i> | + | + | + | + | + | + | - | + | - |
| 5 ⁽⁷⁾ | tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | - | - | + | - |
| 6 ⁽⁷⁾ | tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - ⁽⁸⁾ | + | - | + | - |
| 7 | tomate <i>Mi</i> (9) | - | - | + | + | + | + | - | + | - |
| <i>M. javanica</i> | | | | | | | | | | |
| 1 | tomate <i>Mi</i> | - | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 2 | ¿pimiento? (10) | + | ¿? | + | ¿? | - | + | - | + | ¿? |
| 3 | ¿tomate? (10) | - | - | + | ¿? | - | + | + | + | ¿? |
| 4 | ¿pimiento? (11) | + | ¿? | + | ¿? | - | + | + | + | ¿? |
| 5 | tomate <i>Mi</i> (12) | - | - | + | + | - | - | - | + | - |

(1) Pimiento S: Susceptible cvs “Early California Wonder” y “Sonar”; R: Resistente cvs “Atlante” y “Carolina Wonder”; (2) Tomate S: Susceptible cvs “Rutgers” y “Marmande”; R: Resistente cvs “Euphrates” y “Nikita”; (3) Sandía cv “Charleston Grey”; (4) *Tagetes patula*; (5) *M. arenaria* raza 3 descrita por FARGETTE (1987); (6) *M. hapla* raza A (15–17 cromosomas, haploide) y raza B (45–48 cromosomas, poliploide); (7) *M. incognita* razas 5/6 descritas por TORRES *et al.* (2007) que señalan en la raza 6 el algodón como (+), ha sido modificado posteriormente a (-) en (8) por ROBERTSON *et al.* (2009); (9) raza nueva; (10) *M. javanica* razas 2/3 descritas por RAMMAH & HIRSCHMANN (1990) no se estudiado su efecto sobre pimiento cv “Atlante” y tomate resistente, así como sobre *T. patula*, se comporta igual que la 1 tomate *Mi* por lo que habría que revisarse; (11) *M. javanica* raza 4 descrita por CARNEIRO *et al.* (2003) no se estudiado su efecto sobre pimiento cv “Atlante” y tomate resistente, así como sobre *T. patula*; (12) *M. javanica* raza 5 descrita por ROBERTSON *et al.* (2009).

4.5.7. Estudio de cultivares portadores de genes de resistencia

El estudio de la resistencia de las variedades de tomate a las especies del género *Meloidogyne* constituye una de las alternativas de manejo. En este apartado estudiaremos los cvs “Brenda” portador del gen *Mi*, y “Calvi” cultivar susceptible para *Meloidogyne*. El precio de mercado de las semillas de ambas variedades no constituye un factor limitante en el manejo de la

resistencia. Las variedades se emplean atendiendo a su aptitud comercial, dependiendo el precio de la ley de la oferta y la demanda.

La evaluación de la respuesta a los biotipos de *M. incognita* se llevó a cabo utilizando para ello los aislados tipo presentes en el campo, de los cuales se tienen determinados sus biotipos (Tabla 4.147). De las 32 plantas del cv “Brenda” portadora de genes de resistencia sólo dos presentaron índice 1 y 2, sin la formación de masas de huevos. Se confirma que el material utilizado presenta resistencia a las poblaciones avirulentas de *M. incognita*. Por otro lado, de las 34 plantas del cv “Calvi” susceptible, sólo una presentó un índice 0 por lo que **se confirma que el material utilizado no es portador de genes de resistencia a las poblaciones de *M. incognita*. Por último, tanto el cv “Brenda” como el cv “Calvi” son susceptibles a poblaciones virulentas** (Tablas 4.148-150).

Ensayo en campo. El comportamiento de las variedades en campo se evaluó atendiendo a los índices de nodulación, comparando los muestreos iniciales y al final del cultivo de modo similar a como se realizó en la evaluación de las distintas aplicaciones de materia orgánica como biodesinfectante, considerando para ello todos los puntos muestreados. Se estima la tasa de nodulación (f/i) como el cociente entre el índice de nodulación final y el inicial de modo similar a la tasa de reproducción. El perímetro interior del invernadero presentaba los ramales junto al cuello de la planta y se disponía de un plástico de acolchado negro para evitar la presencia de flora arvense. El comportamiento del cv “Brenda” resistente (Tabla 4.148) no fue estable en toda la superficie del invernadero. Se encontraron dos plantas con raíces noduladas por nematodos, localizadas principalmente en la zona próxima a los bordes, donde las condiciones de humedad y temperatura son más propicias. El testigo solarizado situado en la cara sur del invernadero presentaba una planta con índice 10 frente a un índice 3 en el tratamiento de retranqueo de la cara norte. A efectos estadísticos no se presentan diferencias significativas.

En el cv “Calvi” susceptible (Tabla 4.148) al considerar los bordes de los tratamientos observamos que la tasa de nodulación se reduce en todos los tratamientos entre el 88-55% excepto en el testigo solarizado donde fue de 449%. El efecto del borde del invernadero se observa en todos los tratamientos excepto la carilla al centro donde la presencia de plantas noduladas es nula. Sólo el tratamiento testigo (solarizado) presenta diferencias significativas en el test LSD con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 4.148. Respuesta de cvs “Calvi” y “Brenda” a los aislados de *M. incognita*.

| Raza | Biotipo ⁽¹⁾ | Localidad | cv “Calvi” | | cv “Brenda” | |
|------|------------------------|----------------------------------|------------|----|-------------|----|
| | | | I.N. | R | I.N. | R |
| 1 | Tomate | Perelló El (Valencia) | 7,2 ± 0,8 | S | 0,4 ± 0,9 | MT |
| 1 | Pimiento | Ibiza | 5,7 ± 1,6 | S | 0 ± 0 | T |
| 2 | Tomate | Fuensanta La (Albacete) | 5,4 ± 1,7 | S | 0,2 ± 0,4 | MT |
| 2 | Pimiento | Fuensanta La (Albacete) | 2,6 ± 1,9 | MT | 0 ± 0 | T |
| 3 | Tomate | Paiporta (Valencia) | 6,0 ± 1,0 | S | 0 ± 0 | T |
| 3 | Pimiento | Mareny de Barraquetes (Valencia) | 8,0 ± 0,0 | S | 0 ± 0 | T |
| 4 | Tomate | Águilas (Murcia) | 9,0 | S | 0 | T |
| 1 | Tomate <i>Mi</i> | Villa del Prado (Madrid) | 7,1 ± 1,4 | S | 7,5 ± 0,5 | S |

I.N. índice medio de nodulación. Los valores corresponden a la media ± desviación estándar. R: Respuesta Susceptible (S), índice de nodulación >3; moderadamente tolerante (MT) índice de nodulación 0 - 3; tolerante (T) índice de nodulación = 0.

Tabla 4.149. Efecto de las poblaciones sobre el índice de nodulación en cv “Brenda”.^(*)

| Tratamiento | Inicial | | Final | | Tasa f/i % |
|----------------------|------------------|------------|------------------|------------|---------------|
| | I.N. | n | I.N. | n | |
| Centro | 0,7 ± 2,4 ab | 102 | 0,0 ± 0,0 a | 112 | 0 |
| Línea | 0,6 ± 2,2 a | 101 | 0,0 ± 0,0 a | 120 | 0 |
| Mecanizada | 0,9 ± 2,9 bc | 104 | 0,0 ± 0,0 a | 104 | 0 |
| Restos de cultivos | 1,3 ± 3,0 c | 118 | 0,0 ± 0,0 a | 120 | 0 |
| Retranqueo | 0,5 ± 1,9 ab | 112 | 0,0 ± 0,2 a | 112 | 0 |
| Testigo (Solarizado) | 0,5 ± 2,0 ab | 104 | 0,1 ± 0,9 a | 104 | 0 |
| Total | 0,8 ± 2,5 | 641 | 0,0 ± 0,4 | 672 | 0 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica., I.N.: índice medio de nodulación, n : número de plantas evaluadas.

Tabla 4.150. Efecto de las poblaciones sobre el índice de nodulación en cv “Calvi”.

| Tratamiento | Inicial | | Final | | Tasa f/i % |
|----------------------|------------------|------------|------------------|------------|---------------|
| | I.N. | n | I.N. | n | |
| Centro | 0,3 ± 1,6 a | 23 | 0,0 ± 0,0 a | 25 | 0 |
| Línea | 0,9 ± 2,5 a | 25 | 0,1 ± 0,6 a | 25 | 13 |
| Mecanizada | 0,8 ± 2,8 a | 24 | 0,3 ± 1,3 a | 26 | 32 |
| Restos de cultivos | 1,0 ± 2,6 a | 25 | 0,4 ± 1,7 a | 30 | 45 |
| Retranqueo | 0,8 ± 2,5 a | 25 | 0,4 ± 1,4 a | 28 | 43 |
| Testigo (Solarizado) | 0,4 ± 1,8 a | 25 | 1,6 ± 2,5 b | 26 | 449 |
| Total | 0,7 ± 2,4 | 147 | 0,5 ± 1,6 | 160 | 66 |

^(*)Clasificación en grupos homogéneos; comparaciones realizadas dos a dos con la prueba de Mann-Whitney. La misma letra o letras en la misma fila no manifiestan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$). Las cifras corresponden a la media ± desviación típica. I.N.: índice medio de nodulación, n : número de plantas evaluadas

La utilización de cultivares con genes de resistencia debe ser una opción complementaria de manejo a las técnicas de aplicación de materia orgánica, para aumentar la eficacia en los lugares donde la biodesinfección presente fallos.

5. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS COMO ALTERNATIVA

En la gestión de los sistemas agrarios con criterios agronómicos, se deben destacar en primer lugar los valores de los **sistemas agrarios singulares** como elementos de referencia, así como sus **servicios agroambientales**, que están basados fundamentalmente en **prácticas agrarias tradicionales y en los sistema de producción familiar, entre los que destacan los sistemas de dehesa españoles o los enarenados de Almería**. Para reflexionar sobre ello tomamos como referencia el artículo de JACKSON & BERRY (2009) (Pertenecientes al centro "The Land Institute", Salina, Kansas, EE UU), en el que hacen un análisis tratando de diseñar "un proyecto agrario para los próximos 50 años" en EE UU, como consecuencia de las tormentas intensas del mes de junio de 2008, en las áreas cerealistas de Iowa (EE UU). Este tipo de tormentas veraniegas son poco frecuentes en la zona, y causaron efectos catastróficos de erosión en el suelo, donde se formaron cárcavas de hasta 60 m de ancho. En el artículo señalan que aún es peor el daño a largo plazo que se produce bajo condiciones de lluvia normales, debido a los arrastres por escorrentía y a la erosión superficial de las tierras de cultivo con escasa cobertura vegetal o desnudas, así como por la degradación causada por actividades industriales y tecnologías no relacionadas con la actividad agrícola o el medio ambiente. Por otra parte, plantean que cuando se usa y se abusa del suelo de esta forma, éste se vuelve tan poco renovable como el petróleo, aunque se le puede considerar mucho más valioso ya que, a diferencia del petróleo, el suelo no tiene sustituto tecnológico. A estos autores les preocupa que la agricultura se haya desarrollado con excesiva frecuencia abusando y despilfarrando de forma insostenible de los recursos, desde que los primeros agricultores destruyeran la cubierta protectora del suelo junto con las raíces de las plantas perennes. Destacan que diversas civilizaciones se han destruido a sí mismas al destruir sus tierras de cultivo. **Esta pérdida irremediable, se ha agravado con la gestión incorrecta de enormes áreas de monocultivo y con la continua exposición de la superficie del suelo a los agentes atmosféricos que genera el modelo de agricultura que se lleva a cabo en la actualidad**. En relación con el problema de la pérdida de suelo, la industrialización de la agricultura ha añadido el problema de la contaminación por productos químicos tóxicos, que en la actualidad está presente a nivel mundial en nuestras tierras de cultivo y cursos fluviales, considerando que parte de esta toxicidad está relacionada con las prácticas generalizadas de mínimo laboreo. Los autores plantean que no deberíamos envenenar nuestros suelos para evitar que se pierdan. La agricultura industrial ha transformado nuestro modelo alimentario, haciéndolo totalmente dependiente de los combustibles fósiles, al mismo tiempo que aplica "soluciones" tecnológicas alternativas en lugar de potenciar el trabajo y la creatividad humana, lo que ha desplazado prácticamente la cultura agraria tradicional (con todas sus imperfecciones) que en

el pasado dependía de sistemas de producción agrarios familiares, asistidos por las comunidades rurales. En el trabajo lo que se propone como medidas para proteger al suelo de la erosión es **la introducción de plantas perennes** por sus valores funcionales, que es en realidad el modelo de gestión que se ha venido desarrollando en los sistemas de dehesa mediterráneos y en los sistemas de producción familiar.

Se destaca en el trabajo que el modelo actual de agricultura no es sostenible, por lo que el suministro de alimentos tampoco lo es. **Tenemos que recuperar la salud ecológica de los paisajes agrarios, así como la estabilidad económica y cultural de nuestras comunidades rurales.** Durante los últimos 50 ó 60 años hemos vivido con el convencimiento de que mientras tengamos dinero tendremos comida, lo cual es falso. Si seguimos con nuestra agresión a la tierra y a las prácticas tradicionales agrarias que nos han permitido hasta ahora obtener alimentos, veremos disminuir el suministro de los mismos, y nos enfrentaremos a un problema mucho más complejo que es el fracaso de nuestra teoría económica. Los gobiernos no podrán proporcionarnos alimentos sólo mediante subvenciones de cientos de billones de dólares a los sectores agrarios. **La forma más inmediata de hacerlo es volver a las rotaciones de cultivos,** donde se deben incluir, la producción de heno, los pastos y el pastoreo de animales. Los agricultores creativos y los consumidores de todo el mundo están realizando muchos de los cambios necesarios para la producción y comercialización de alimentos. Pero también **necesitamos una política agraria nacional basada en criterios agronómicos.** Necesitamos un proyecto agrario para los próximos 50 años que trate de resolver fundamentalmente los problemas de pérdida, degradación y contaminación de suelo, la destrucción de las comunidades rurales, pero sobre todo nuestra dependencia de los combustibles fósiles. Todo esto es, sin duda, una cuestión política, pero que está mucho más allá de la política agraria a la que estamos acostumbrados.

La utilización de genes de resistencia en cultivos hortícolas para minimizar los daños causados por los nematodos fitoparásitos del género *Meloidogyne* es una alternativa que por si sola tiene una acción limitada en el tiempo, cuya repercusión no es en ningún caso comparable a la acción biodesinfectante de la materia orgánica, aunque sí puede ser complementaria.

En un análisis de “la crisis del cultivo de tomate en Canarias” y la “búsqueda de alternativas agroecológicas”, BELLO (2008) destaca que la agroecología nos enseña que la **diversidad**, tanto biológica, como ambiental o cultural, es la clave para la gestión de los sistemas agrarios. Cuando se analiza el cultivo de tomate en Canarias, a modo de ejemplo, nos encontramos que se trata de un monocultivo, siendo la **diversidad biológica** prácticamente cero

puesto que se ha estado cultivando no sólo tomate, sino incluso la misma variedad, manteniéndose la rentabilidad del cultivo a través del “saber” campesino, que ha seleccionado técnicas de cultivo que permiten gestionar la **diversidad ambiental**, mediante el diseño de invernaderos, o una orientación correcta del cultivo, e incluso seleccionando la época de plantación durante los meses de otoño e invierno, período en el que los patógenos termófilos, que necesitan de temperaturas superiores a 15 °C, no se reproducen (Figs 1.3 y 5.1). Al mismo tiempo se han manejado las sombras o las cubiertas del suelo para reducir la temperatura y prolongar la duración del ciclo del patógeno, disminuyendo el crecimiento de sus poblaciones. También se ha actuado a través de la **biodiversidad funcional** de la flora arvense (“malas hierbas”) que pueden servir como “plantas trampa” impidiendo, al ser eliminadas en el momento oportuno, que se complete el ciclo de los patógenos que se encuentran en la planta. Por otro lado, con el aporte al suelo de biodiversidad funcional mediante el empleo de estiércol o materia orgánica, se consigue añadir el valor de complementariedad funcional e incluso económica de la ganadería. Por todo ello, **el manejo de la diversidad biológica y ambiental, a través de la cultura agraria (diversidad cultural), ha permitido mantener un cultivo de modo sostenible.**

La aparición de variedades con genes de resistencia a los nematodos del suelo del género *Meloidogyne*, “la batatilla” de las raíces del tomate, constituyen uno de sus principales patógenos en Canarias. Las áreas termófilas características del cultivo están representadas por dos especies: *M. incognita* y *M. javanica*, aunque en las zonas de umbría y en las “Medianías” de Canarias pueden aparecer también otras especies como *M. arenaria*. Las variedades resistentes de tomate se han venido recomendando de modo general para el control de los nematodos “formadores de nódulos”, cuando en realidad sólo pueden presentar resistencia a ocho biotipos de *M. incognita*, y a ninguno de los biotipos de *M. arenaria* y *M. javanica* que hemos encontrado en España (TORRES *et al.* 2007). La utilización de variedades resistentes a nematodos, ha dado lugar a la selección de poblaciones de ambientes termófilos, que sólo se reproducen a temperaturas superiores a 15 °C, de la especie ***M. javanica* raza 1 biotipo tomate *Mi*** que son virulentas para las variedades de tomates portadoras del gen (*Mi*) de resistencia, pudiéndose afirmar que es el biotipo que predomina no sólo en Canarias sino en todos los cultivos de tomate donde se han venido utilizando variedades resistentes, como es el caso de Almería, Cataluña y Murcia.

Definido el problema principal en el cultivo de tomate, hay que buscar alternativas con criterios agronómicos que sean de fácil aplicación por los agricultores, siendo necesario caracterizar las poblaciones del biotipo virulento seleccionado *M. javanica* 1 tomate *Mi*, estudiando su

comportamiento sobre diferentes cultivos, y encontrándose de modo sorprendente que todas las variedades de pimientos ensayadas son resistentes a este biotipo, siendo por ello una alternativa para su manejo la rotación con pimientos. Sin embargo, se debe tener en cuenta que en un cultivo de tomate pueden existir mezclas con diferentes biotipos de *M. incognita*, que pueden parasitar a pimientos susceptibles. Cuando esto ocurre, **una alternativa es la utilización de pimientos resistentes, entre ellos el cultivar “Atlante”, como portainjertos, así como una rotación posterior con otro cultivo para evitar la selección de poblaciones virulentas para pimientos resistentes. Para ello, hay que diseñar un manejo mediante la colaboración de expertos en la caracterización de los biotipos de nematodos, con la utilización de cultivares resistentes o susceptibles de pimientos y tomates.**

Como conclusión, cabe señalar que cuando se mantiene un monocultivo de tomates resistentes durante varios años, las poblaciones de nematodos por lo general son de *M. javanica* 1 tomate *Mi*, que pueden manejarse con una rotación con pimientos, que debe complementarse con el diseño de un sistema de rotación que sea viable económicamente, y con métodos de biodesinfección de suelos, mediante la aplicación de estiércol, materia orgánica o abonos verdes, que al descomponerse producen gases que pueden actuar como biodesinfectantes, evitando con todo ello la selección de poblaciones virulentas (BELLO *et al.* 2003, BELLO 2008).

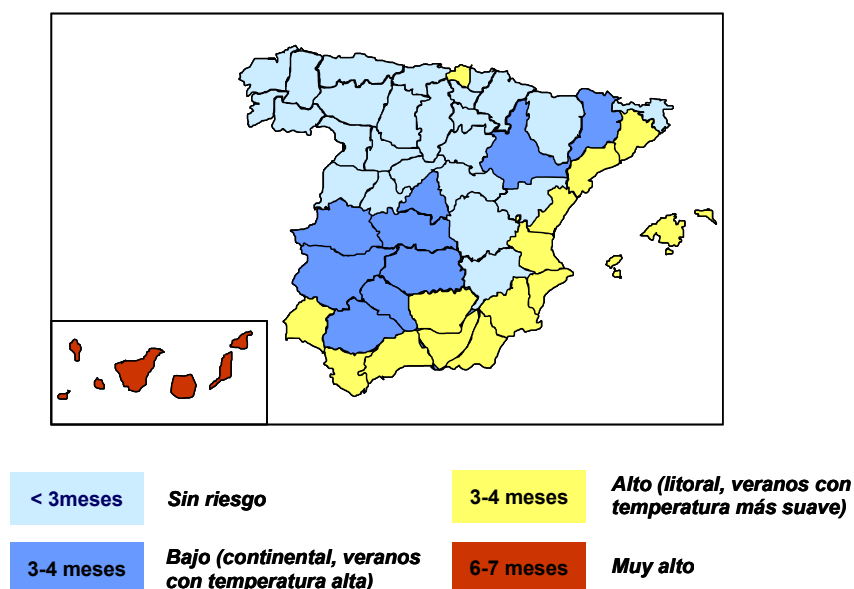


Figura 5.1. Áreas de riesgo en España del nematodo termófilo *M. incognita* según el número de meses con temperaturas medias superiores a 20 °C.

La biodesinfección de suelos como alternativa a los fumigantes químicos. Las Comunidades Autónomas de Andalucía, Canarias, Extremadura, La Rioja, Murcia, así como La

Federación Española de Productores y Exportadores (FEPEX) están de modo excepcional solicitando al Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino que se autorice el uso del fumigante 1,3-dicloropropeno (1, 3-D, Telone®) para el control de patógenos de vegetales que tienen su origen en el suelo (DÍEZ-ROJO *et al.* 2009). Se debe señalar que el 1,3-D, al igual que otros fumigantes del suelo, se degrada por la acción de los microorganismos disminuyendo su eficacia (OU *et al.* 1995, VERHAGEN *et al.* 1996, DUNGAN & YATES 2003). Además es un posible contaminante de las aguas subterráneas, uno de los principales factores limitantes para su empleo como fumigante del suelo, habiéndose presentado también casos de fitotoxicidad (MBTOC 2008).

Como alternativa al 1,3-D se propone la **biodesinfección de suelos**, que se fundamenta en la acción desinfectante de las sustancias que se originan durante la descomposición de la materia orgánica para el manejo en el suelo de los patógenos de las plantas, resultando eficaces en el control de bacterias, hongos, nematodos e incluso malas hierbas, con una eficacia similar, pudiendo regular problemas de virus, y cuya eficacia se prolonga en el tiempo con su incorporación en un sistema de producción con un diseño adecuado. Los biodesinfectantes además estimulan la actividad biológica y mejoran las propiedades físicas y químicas del suelo, reduciendo el consumo de agua y fertilizantes (Fig. 5.2) La biodesinfección de suelos, en una primera fase se consideró como una propiedad de las brassicas, que al utilizarse como abono verde dan lugar a gases (isotiocianatos) con efecto biocida, por lo que se ha denominado **biofumigación** (BELLO *et al.* 2003, 2008a).

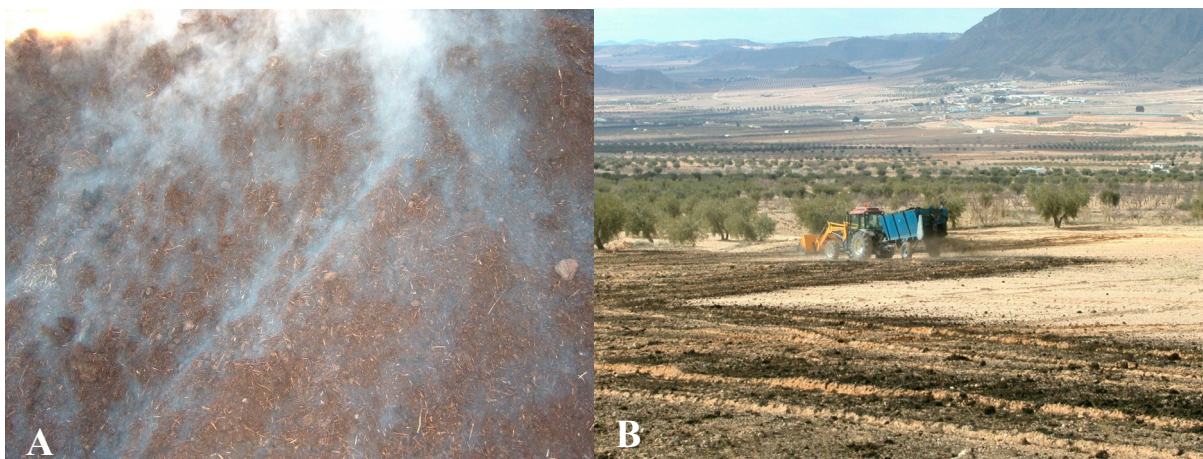


Figura 5.2. (A) Estiércol utilizado en biodesinfección de suelos, (B) para replantación de viñedos en Jumilla (Murcia) (GÓMEZ SORIANO *et al.* 2006).

Se ha demostrado que la materia orgánica con una relación C/N comprendida entre 8-20 es eficaz en biodesinfección de suelos, pudiendo ser de naturaleza diversa, tanto sólida como

líquida que además, dentro de un contexto dinámico, puede dar lugar a la generación de gases. Su eficacia se puede incrementar al combinarse con solarización, por lo que se conoce también como **biosolarización**. Para que se pueda producir la biodesinfección es necesario que el suelo tenga un nivel alto de actividad biológica, así como regular su capacidad de campo para mantener los niveles de humedad necesarios que faciliten la descomposición de la materia orgánica y mejore la difusión de gases en el suelo, ejerciendo un **efecto biostático** al no producir la muerte inmediata de los organismos patógenos. Por ello, los gases se deben retener varios días cubriendo el suelo por medio de un plástico para aumentar la eficacia de la biodesinfección, al mismo tiempo que se incrementan los organismos saprófitos responsables de la actividad biológica del suelo y de la descomposición de la materia orgánica (DÍEZ-ROJO 2006).

5.1. BIODESINFECCIÓN DE SUELOS

Debido a la prohibición del uso de bromuro de metilo (BM), que se venía utilizando como un fumigante de suelo muy eficaz contra el control de enfermedades de suelo y sin dificultades de uso, así como por el aumento de superficie de sistemas de agricultura ecológica en los cuales no se pueden utilizar productos químicos, o debido a la retirada de varios de los fumigantes de suelo, es necesaria la búsqueda de alternativas, que planteó de forma que fueran respetuosas con el medioambiente y la salud de los seres vivos. En un principio se propuso el uso de la solarización como alternativa y posteriormente se empezó a investigar en el uso de la materia orgánica como supresor de enfermedades. Además se debe señalar que en España la desinfección de suelos es una práctica habitual, y especialmente necesaria en las zonas de agricultura intensiva del sureste peninsular (LACASA *et al.* 2002)

Existen diversos enfoques para el manejo de organismos del suelo patógenos de los vegetales mediante el uso de materiales de origen orgánico. Cada uno de ellos se suele centrar en un proceso o elemento que interviene durante el periodo de duración del tratamiento. Pero todos tienen en común que consideran que la actividad biológica del suelo es la encargada de que la eficacia del tratamiento sea mayor o menor, puesto que es la que realiza la descomposición de la materia orgánica y dan lugar a las sustancias con efecto desinfectante. Sin la actividad biológica del suelo o los microorganismos que puedan aportar las enmiendas orgánicas utilizadas al incorporarlas al suelo, no sería posible realizar el manejo de los patógenos. Además de la actividad biológica existen otra serie de factores ambientales, y sobre todo edáficos que regulan la velocidad de descomposición de la materia orgánica. Se puede afirmar después de todos los trabajos revisados que el manejo de los patógenos de suelo de los

vegetales mediante el uso de materiales de origen orgánico es complejo, debido a que se producen numerosos procesos químicos y biológicos que a su vez dan lugar a diversos tipos de compuestos o reacciones responsables de la supresividad de las enfermedades.

La biofumigación hace referencia a los efectos supresivos asociados a la liberación de isotiocianatos generados durante la hidrólisis de los glucosinolatos, mediante la acción de la enzima mirosinasa, presentes en las brasicas. Las brasicas contienen una proporción alta de glucosinolatos con actividad biológica, que por la acción de los microorganismos se transforman en compuestos biocidas, principalmente isotiocianatos y nitritos (ANGUS *et al.* 1994, LAZZERI *et al.* 2004). En este sentido AVILÉS GUERRERO *et al.* (2008) sugieren que existe una relación entre la actividad de las poblaciones microbianas y la reducción de la densidad del patógeno. KIRKEGAARD *et al.* (2008) señalan que en el manejo de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* cualquier tipo de materia orgánica es supresora de la enfermedad, por lo que parece que los glucosinolatos no son el único proceso clave en su eficacia, sino los diferentes procesos que tienen lugar durante la descomposición de la materia orgánica. Sin embargo, en la supresión de bacterias como *Ralstonia solanacearum* observan como se reducen las poblaciones a los pocos días debido a la acción de los glucosinolatos y existen otra reducción posterior debida a la materia orgánica. Además en el trabajo sugieren que durante la supresión de las enfermedades no se produce un cambio general de la comunidad biológica del suelo, pero si cambios más específicos de la comunidad microbiana, poniendo de manifiesto que esta pequeña parte que se modifica es suficiente para realizar el manejo de las poblaciones de patógenos de modo eficaz.

BELLO *et al.* (1999, 2000, 2003) posteriormente amplían el concepto de biofumigación a la utilización de cualquier tipo de materia orgánica, no sólo la hacen extensible a las brasicas, definiendo por ello la biofumigación como “la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el manejo de los patógenos de las plantas”. Otra vez se pone de manifiesto que las sustancias volátiles se producen por la descomposición de la materia orgánica, que la realizan tanto los microorganismos presentes en el suelo como los que se incorporan con la materia orgánica. En sus investigaciones sobre nematodos señalan que aumentan los organismos saprófagos, generalmente los nematodos del grupo de los rhabdítidos que son microvívoros, es decir que se alimentan de microorganismos presentes en el suelo, lo que hace suponer que el incremento de los rhabdítidos es debido a que también aumentan las poblaciones de microorganismos del suelo.

Dentro de la biofumigación hay que tener en cuenta la **micofumigación**. En este caso es el propio microorganismo el que realiza la función de desinfección del suelo, puesto que es el hongo el que posee la capacidad de producir una mezcla de compuestos orgánicos volátiles capaces de controlar un amplio rango de hongos y bacterias patógenos de las plantas, así como de los humanos (STROBEL *et al.* 2001, WORAPONG *et al.* 2001), entre ellos los de origen edáfico (STINSON *et al.* 2003, MERCIER & MANKER 2005). Sin embargo para el caso de los nematodos formadores de nódulos su acción es limitada, aunque se han obtenido buenos resultados (RIGA *et al.* 2008).

Desinfestación biológica de suelos (BSD) consiste en la **creación de condiciones de anaerobiosis** en el suelo causadas por el incremento de la respiración microbiana, mediante la incorporación de enmiendas orgánicas frescas, con alto contenido en carbono orgánico debiéndose su efecto a que se produce una fuerte reducción del potencial redox (BLOK *et al.* 2000, GOUD *et al.* 2004, SHINMURA 2004, TAKEUCHI 2004, WATANABE 2006). De nuevo la actividad biológica del suelo es fundamental, puesto que es la responsable de causar las condiciones de anaerobiosis, debido a un incremento en la respiración microbiana y ayudado por la presencia de un plástico impermeable al oxígeno, para evitar que se produzca una recolonización por el oxígeno. Además **la descomposición anaerobia de la paja de trigo es fitotóxica** debido a la producción de ácido acético (LYNCH 1977, 1978). La acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) es temporal, rompiéndose sus moléculas cuando se vuelve a las condiciones aeróbicas, por lo que esta rápida degradación explica su ineficacia en algunas ocasiones (LAZAROVITS 2001).

Por otro lado se restablece rápidamente la biota del suelo que causa la supresividad de una enfermedad lo que indica que los antagonistas específicos no se eliminan con la BSD y además no se aumenta la conductividad en el suelo de las enfermedades (GOUD *et al.* 2004).

Desinfección selectiva de suelos. Consiste en la incorporación de materia orgánica al suelo para el control de los organismos patógenos. El nombre se establece basándose en el hecho de que los compuestos tóxicos generados durante la descomposición de la materia orgánica añadida al suelo no tiene acción letal sobre todos los organismos, sino que tiene una acción selectiva sobre las poblaciones microbianas, sugiriendo que aquellas poblaciones que son más activas biológicamente detoxifican los compuestos tóxicos generados durante la descomposición de la materia orgánica (LAZAROVITS 2004). En los estudios realizados por el grupo del profesor LAZAROVITS consideran que el efecto de supresividad se debe a compuestos nitrogenados que se generan durante la descomposición de la materia orgánica

rica en nitrógeno como el amoníaco o el ácido nítrico y también a la formación de ácidos grasos volátiles (AGV) como el acético, propiónico, butírico, etc. En sus planteamientos le dan más importancia a las propiedades tanto químicas como físicas del suelo que a la propia descomposición de la materia orgánica, aunque siempre señalan que la producción de los compuestos que se generan se debe a la descomposición de la materia orgánica, que como conocemos la realizan fundamentalmente los microorganismos presentes en el suelo.

En función del pH, la textura y contenido en carbono orgánico del suelo, se producen unos compuestos u otros. Así cuando se incorporan al 2% (peso/peso) materia orgánica con alto contenido en nitrógeno, que equivaldrían entre 60-80 t/ha en función del tipo de suelo, en un suelo arenoso con $\text{pH} > 8,3$ se produce rápidamente amoníaco, que es letal para los patógenos. Sin embargo si el contenido en carbono orgánico es mayor del 2% se produce una nitrificación rápida y no se acumula nitrógeno (TENUTA & LAZAROVITS 2002b). Por otro lado, el amoníaco generado se volatiliza de modo más lento cuando el suelo está cubierto con un plástico (LAZAROVITS 2004). Además la eficacia de la materia orgánica en el control de patógenos se incrementa gradualmente según aumenta la temperatura debido a que se incrementa la concentración de moléculas de amoníaco. Por otro lado cuando se realiza solarización sola o se combina con la incorporación de materia orgánica, la actividad biológica del suelo se modifica. Las bacterias nitrificantes son sensibles a las altas temperaturas y a la solarización, muriendo al mes en la parte superior de un suelo donde se acumula el amonio (STEVENS *et al.* 2003).

En todas estas hipótesis de trabajo podemos observar que tanto las distintas propiedades del suelo como los microorganismos son importantes a la hora de obtener la eficacia deseada al realizar una desinfección del suelo, pues son los encargados de producir el amoníaco. Por otro lado cuando se incorporan materias orgánicas ricas en nitrógeno en baja proporción (0,25-0,5% peso/peso), que equivaldrían entre 7,5-20 t/ha en función del tipo de suelo, se produce una bajada de pH y la formación de ácido nítrico, siendo a partir de $\text{pH} < 3,3$ máxima (TENUTA & LAZAROVITS 2002b). En España los suelos de forma general suelen ser calizos y con una alta capacidad tampón, por lo que esta vía de supresión de las enfermedades parece difícil.

Por otro lado al incorporar materias orgánicas al suelo como pueden ser los purines de cerdo o la harina de pescado, sin especificar dosis, se forman AGV que son letales para los patógenos del suelo. Esta vía requiere que el pH de la solución del suelo sea ácida o ligeramente ácida para que los AGV se encuentren disociados, puesto que esa es la forma letal (CONN & LAZAROVITS 1999, 2000, CONN *et al.* 2005, ABBASI *et al.* 2009). De nuevo podemos observar

que tanto las propiedades como los microorganismos del suelo, que son los que producen los AGV son fundamentales. Esta vía de supresión de las enfermedades también parece difícil que sea la supresora de los patógenos de los vegetales de origen edáfico, puesto que los pH de la solución del suelo de forma generalizada son más elevados y los suelos tienen alta capacidad tampón.

Biodesinfestación. El Methyl Bromide Technical Options Committee (MBTOC 2007) al revisar las alternativas no químicas al bromuro de metilo (BM), introduce, en el subapartado de tecnologías para fincas pequeñas, el nuevo término de “**biodesinfestación**” (“*biodesinfestation*”), refiriéndose a las enmiendas orgánicas y cultivos que son capaces de liberar gases tóxicos durante su descomposición en el suelo, equiparándolo a la “**biofumigación**”, alternativa que sólo consideran propia de las brasicas.

Las desinfecciones de suelos tanto químicas como no químicas, tienen el valor potencial de poder generar la supresividad de los patógenos en suelo mediante la modificación de la microflora del suelo (STOVER 1979). Sin embargo se ha observado que cuando se produce una desinfección en condiciones de anaerobiosis no se aumenta en el suelo la conductividad de las enfermedades (GOUD *et al.* 2004).

Otro aspecto a tener en cuenta es la supresión de patógenos por otros organismos como son los **agentes de control biológico** o los **cultivos supresivos**. Al aplicar materia orgánica en los suelos podemos favorecer el incremento de microorganismos que actúan como competidores o agentes de control biológico. Así se ha estudiado que al aplicar lignosulfato de amonio, o emulsiones de pescado que no tiene un efecto tóxico sobre los patógenos, se produce un efecto supresor de las enfermedades debido a un aumento de la actividad biológica del suelo (SOLTANI *et al.* 2002, ABBASI *et al.* 2004). En otros casos la aplicación de purines de cerdo, además de un incremento de la actividad microbiana del suelo se ha encontrado que aumentan en particular las poblaciones de *Trichoderma* (CONN & LAZAROVITS 1999). En este sentido BAILEY & LAZAROVITS (2003) sugieren que para incrementar la diversidad de organismos del suelo se deben utilizar productos orgánicos que utilicen su riqueza energética. Con respecto a los cultivos supresivos se deben señalar los *Tagetes* spp., que son eficaces en el manejo de nematodos como pueden ser las especies del género *Meloidogyne* y *Pratylenchus penetrans*, aunque necesitan de la ayuda de los microorganismos de la rizosfera del suelo para activar el tiofeno con efectos supresores (TOPP *et al.* 1998).

El objetivo que se pretende alcanzar con la aplicación de materia orgánica es la creación de “suelos supresivos”. La **supresividad inducida** se puede crear en los suelos mediante las prácticas de cultivo. El ejemplo más claro se ha observado con *Fusarium* donde algunos *Fusarium* saprófagos, en particular *F. oxysporum* y *F. solani* inhiben la germinación de las clamidosporas de las formas patógenas (GARIBALDI 1984, ALABOUVETTE 2000, WELLER 2007). Introduciendo materia orgánica como pueden ser las vinazas de remolacha se ha observado incremento de las poblaciones fusáricas sin más detalle (SANTOS *et al.* 2007). En esta línea aun queda mucha investigación por realizar.

Como hemos podido observar, sin la actividad biológica del suelo la materia orgánica no tiene la capacidad de poder regular las poblaciones de microorganismos patógenos del suelo (LAZAROVITS 2004).

En un concepto amplio, hemos preferido usar el término **biodesinfección de suelos** en lugar los términos “**biofumigación**”, “**desinfestación biológica de suelos**”, “**desinfestación selectiva de suelos**” o “**biodesinfestación**”, puesto que el proceso se centra en el uso de la materia orgánica y está basado en efectos de origen biológico relacionados con su descomposición. En primer lugar no debemos olvidarnos que el suelo es un “organismo” en el cual hay vida y en el cual se desarrollan los patógenos, que no es una “caja negra”, sino que tiene un funcionamiento con bases biológica. Como hemos podido observar, la descomposición de la materia orgánica hay que considerarla dentro de un proceso dinámico de reacciones o procesos que ocurren en el suelo reguladas por los microorganismos, como pueden ser la creación de anaerobiosis o de condiciones reductoras, la formación de compuestos volátiles como el amoníaco o los AGV u otra serie de compuestos que todavía se desconocen o no se les atribuye un efecto letal. La adición al suelo de enmiendas orgánicas puede dar lugar a cientos de reacciones químicas y biológicas que todavía no están bien estudiadas. Además debemos de tener en cuenta la naturaleza de la materia orgánica que es muy diversa pudiendo ser sólida o líquida, dando lugar en su descomposición a la producción de gases, con un alto contenido en compuestos nitrogenados con **efecto biostático**, que por lo general no tienen efecto letal inmediato, sino que paraliza a los organismos vivos (principalmente nematodos) hasta que llegan a producirles la muerte. En un principio se prefirió el término biofumigación puesto que define mejor el proceso a través del cual, los gases liberados por la descomposición de la materia orgánica actúan de modo similar a los fumigantes químicos que se habían venido utilizando en agricultura. Queda entonces demostrado que la materia orgánica puede utilizarse para el manejo de organismos patógenos como bacterias, hongos, nematodos e incluso la flora arvense o virus con una eficacia similar

al BM (BELLO 1998, 2008, KIRKEGAARD & SARWAR 1998, BELLO *et al.* 2003, LAZAROVITS *et al.* 2005), siempre y cuando se utilice de forma racional, favoreciendo los procesos que incrementan su eficacia como biodesinfectante.

En este trabajo, el objetivo no era estudiar qué mecanismos son supresores de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* y de los transmisores de virus del género *Xiphinema*, sino comprobar que la materia orgánica puede realizar esa función con la misma eficacia que los productos químicos que se han venido utilizando. Debemos señalar que en los suelos estudiados en el trabajo son generalmente suelos básicos con una capacidad tampón alta y en todos se ha alcanzado la eficacia esperada, es decir la reducción de las poblaciones de nematodos fitoparásitos tanto ectoparásitos del género *Xiphinema* como endoparásitos del género *Meloidogyne*, en muchos casos similar al BM. Hemos trabajado generalmente en suelos con pH básicos, en los que el contenido en carbono orgánico es menor del 2% y a los cuales les hemos cubierto en la mayoría de casos con un plástico con el fin de que aumentase la temperatura y para evitar la pérdida de los compuestos volátiles que se generan durante la descomposición de la materia orgánica. Además tanto en Almería como en Murcia el fin era combinar la solarización con el empleo de materia orgánica. En Marchamalo (Guadalajara), zona centro peninsular, la época de realización de los tratamientos presentaba temperaturas más bajas. Como vemos la solarización al ser perjudicial para las bacterias nitrificantes ha favorecido la formación de amoníaco que es uno de los compuestos letales. Además hemos podido comprobar que aumenta la actividad biológica, pues en el caso de las vinazas de remolacha que son pobres en fósforo se ha observado una disminución del contenido en fósforo que ha sido metabolizado por los microorganismos del suelo.

La gran complejidad de los procesos químicos, físicos y biológicos que regulan la biodesinfección de suelos, no condicionan para que esta alternativa sea de fácil aplicación por técnicos e incluso agricultores, dependiendo su eficacia fundamentalmente de la selección de la materia orgánica de los residuos agroindustriales o los abonos verdes utilizados como materia prima, sin olvidarnos del método de aplicación, de la duración de tratamiento y siendo además necesario que el suelo posea una buena actividad biológica. En este sentido se ha observado que la eficacia de la biodesinfección mejora con su aplicación reiterada, produciéndose mejoras en la actividad biológica, fertilidad, permeabilidad e infiltración de los suelos.

5. 2. DIVERSIDAD EN NEMATODOS, VARIEDADES RESISTENTES Y MANEJO

Analizada la función del suelo y de la materia orgánica en la regulación de los organismos patógenos de los vegetales de origen edáfico en el apartado anterior (**5.1. Biodesinfección de suelos**), junto con su influencia en el incremento de la biodiversidad edáfica y las propiedades físicas y químicas del suelo, nos vamos a centrar en este apartado 5.2 en el **análisis de la diversidad y variabilidad de la virulencia en los nematodos fitoparásitos**, tomando para ello como referencia a los nematodos polífagos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, especialmente las especies más frecuentes en nuestros cultivos *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica*, por ser los nematodos que más influencia tienen sobre el rendimiento de los cultivos, no sólo de los hortícolas protegidos, sino también de los hortícolas al aire libre, frutales, viñedos y otros cultivos extensivos, teniendo en cuenta para ello su relación con las variedades resistentes que se vienen utilizando para el control de estos nematodos, especialmente dentro de los cultivos hortícolas protegidos, especialmente aquellos cultivares comerciales portadores de genes de resistencia que se utilizan con más frecuencia en plantas de pimientos y tomates, sin dejar de analizar el comportamiento de diferentes cultivares de cucurbitáceas que se vienen proponiendo como portainjertos, al mismo tiempo que otros cultivares que se han propuesto como portadores de resistencia en batatas, judías y otras leguminosas, diferentes variedades de clavel dentro de la flor cortada, la función de las fresas, pero especialmente diferentes especies de brasicas y de tagetes que se vienen proponiendo como abonos verdes para su utilización como biodesinfectantes de suelo, siendo preocupante que se puedan desarrollar de modo exponencial las poblaciones de *Meloidogyne* durante su cultivo creando posteriormente problemas muy graves.

Los nematodos del suelo constituyen uno de los modelos de mayor complejidad que podemos encontrar dentro de un sistema agrario, puesto que existen no sólo un gran número de especies y de grupos sistemáticos, así como taxonómicos, sino sobre todo por la complejidad de su biología y comportamiento ecológico, destacando dentro de la sanidad vegetal las especies fitoparásitas, que por su comportamiento en relación con la planta huésped pueden ser **ectoparásitos** y **endoparásitos polífagos** donde las rotaciones de cultivos son poco eficaces, como es el caso de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*. Por otro lado, **nematodos específicos** que parasitan sólo a un determinado grupo de plantas, como es el caso de los nematodos formadores de quistes del género *Heterodera* de los que un grupo parasita fundamentalmente a los cereales y otro a la remolacha, así como los del género *Globodera* que parasitan fundamentalmente a las solanáceas, como pueden ser la patata, tomate o el tabaco, u otros formadores de quistes que parasitan a las quenopodiáceas como la remolacha o a las crucíferas y a las leguminosas, además del nematodo de los cítricos

(*Tylenchulus semipenetrans*), siendo por ello la rotación de cultivos una alternativa de manejo eficaz.

Se demuestra la enorme complejidad que los nematodos fitoparásitos presentan, así como una alta dificultad para su manejo agronómico, no sólo por su biología, con especies endoparásitos, sedentarios y polífagas como los formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, especies endoparásitas sedentarias específicas como es el caso de los formadores de quistes de los géneros *Globodera* y *Heterodera*, especies de endoparásitos migratorias como los nematodos del género *Pratylenchus* que por lo general son polífagas y por último especies de nematodos ectoparásitos que se presentan en la mayoría de suelos y cultivos. La complejidad de los nematodos se ve incrementada por los fenómenos de interacción con otros organismos patógenos de los vegetales como son hongos, bacterias y virus.

Diversidad y virulencia en nematodos. Se tiene en cuenta el comportamiento de las diferentes plantas huésped que se vienen utilizando como bioindicadores en los test para diferenciar razas y biotipos de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* que han sido diseñados por TAYLOR & SASSER (1978) y posteriormente modificados principalmente por HARTMAN & SASSER (1985), BELLO *et al.* (2004b), ROBERTSON *et al.* (2006, 2009, 2010) y TORRES *et al.* (2007), que en nuestro análisis nos permiten resaltar especialmente sus aspectos funcionales, no sólo a nivel de los cultivos hortícolas como es el caso de los pimientos susceptibles cv “Early California Wonder” que actúan como no huésped para definir *M. arenaria* raza 2, *M. incognita* razas 5, 6 y 7 y *M. javanica* razas 1, 3 y 5, junto con los pimientos resistentes cv “Atlante” que pueden presentar resistencia a una serie de biotipos de *M. incognita* de las razas 1, 2, 3 y 4, así como a las razas 5, 6 y 7, y a las poblaciones de *M. arenaria* raza 2 y *M. javanica* raza 1. Por otro lado, la sandía cv “Charleston Grey” presenta resistencia a las poblaciones de *M. hapla*, así como *Tagetes patula* planta que sólo es parasitada por algunos biotipos de *M. hapla*. En el caso de la agricultura extensiva conviene destacar en primer lugar la funcionalidad del algodón cv “DP 61” que presenta resistencia a *M. incognita* razas 1, 2, 5 y 6, así como a todas las razas y biotipos de *M. arenaria*, *M. hapla* y *M. javanica*; el tabaco cv “NC 95” que presenta resistencia a *M. incognita* razas 1, 3 y 5 y *M. javanica* raza 5; por último el cacahuete cv “Florunner” que sólo es susceptible a *M. arenaria* raza 1, *M. hapla* y *M. javanica* razas 2 y 3. Este planteamiento para el diseño de las hojas de rotación ha sido recientemente desarrollado por PIEDRA BUENA *et al.* (2009).

Todo ello presenta un interés especial en el diseño de los sistemas de rotación no sólo en horticultura sino también en agricultura extensiva, una vez que se realiza previamente la caracterización de las poblaciones identificando sus especies, razas y biotipos, aunque no hay que olvidar que **con gran frecuencia se pueden encontrar mezclas de varias especies, razas**

y **biotipos**, que en muchos casos incrementan la acción de virulencia de los nematodos dificultado su manejo. Se han encontrado también fenómenos de resistencia en las batatas cvs “TIS 3290” y “TIS 9162”, en las judías cv “Nema Snap”, fresas y claveles cvs “Domingo”, “Exotica” y “Pink Diamond” (PIEDRA BUENA *et al.* 2009).

El conocimiento de la virulencia de los nematodos, junto a las variedades resistentes constituyen un potencial de gran valor en el diseño de los sistemas de manejo de los cultivos con criterios ecológicos, para tratar de incrementar la capacidad de autorregulación de los sistemas agrarios, con el fin de reducir las poblaciones de organismos patógenos de los vegetales, dentro de un nuevo enfoque agroecológico de la protección vegetal (BELLO *et al.* 2008a), que en el caso de los nematodos parásitos de plantas nos permite encontrar alternativas al uso de nematicidas de síntesis que tiene impacto sobre la salud de los ciudadanos y sobre el medioambiente, lo cual ha originado que en la mayoría de los casos se haya prohibido su uso y los que quedan estén pendientes de revisión.

Por otro lado, están los aspectos relacionados con la interacción de los nematodos con otros patógenos especialmente hongos y bacterias, pero sobre todo los **vectores de virus** de los géneros *Longidorus* y *Xiphinema*, especialmente *X. index* en los viñedos, o los de los géneros *Trichodorus* y *Paratrichodorus* en los cultivos hortícolas y flores. Por último, existen también **nematodos que son parásitos de las partes aéreas** de las plantas como es el caso de *Ditylenchus dipsaci* y *D. destructor* en hortalizas, o *Aphelenchoides fragariae* en fresa, u otras especies del género *Aphelenchoides* en flor cortada (BELLO *et al.* 1994b) o el *Bursaphelenchus xylophilus* que parasita la parte aérea de los pinos (ROBERTSON *et al.* 2008).

Se debe de tener en cuenta dentro de los fitoparásitos su distribución, ya sea geográfica como por cultivos, que nos ha permitido conocer las especies de cuarentena, las cuales en el caso de España han sido revisadas por BELLO *et al.* (2005, 2008b) debido a que tiene un gran interés para manejar la sanidad de los cultivos, pudiéndose distinguir tres elementos estructurales con respecto a la distribución biogeográfica en la España peninsular, lo que presenta un gran interés a la hora de establecer alternativas de manejo. En primer lugar nos encontramos con un grupo de especies que podemos considerar como **componente sur**, que predomina en los ambientes termófilos, generalmente en los cultivos hortícolas está representada por *M. incognita* y *M. javanica*, frecuentemente asociadas al litoral mediterráneo de la Península Ibérica incluyendo Islas Baleares, con la excepción de la Comunidad Valenciana, y por otro lado en las Islas Canarias. También se ha encontrado en las áreas termófilas de Extremadura. El segundo componente en importancia lo encontramos representado por un grupo de especies de ambientes templados, que podemos considerar como **componente norte**, por encontrarse fundamentalmente en el norte de la Península Ibérica, así como en el centro y norte del

continente europeo, destacando especies como *M. chitwoodi* y *M. fallax*, que son organismos de cuarentena que parasitan principalmente a patatas. Sus características biogeográficas se deben de tener en cuenta para evitar su distribución en la Península y Canarias donde todavía no se conoce su epidemiología, evitando su introducción. Dentro de este grupo están también los principales nematodos de los géneros *Globodera* y *Heterodera*, que se caracterizan por ser específicos para determinadas plantas cultivadas, siendo de gran interés para su manejo las rotaciones de cultivos. Por último, el tercer componente está formado por especies que podemos considerar **componente de transición**, que se distribuyen principalmente por el centro y las áreas de transición entre los ambientes termófilos y templados de la Península Ibérica, como son *M. arenaria* y *M. hapla*, aunque esta última ha sido encontrada en los cultivos de fresa de Huelva. Dentro de este grupo podemos señalar también la especie *M. incognita*, que aparece también con frecuencia en las Islas Baleares e Islas Canarias.

Cuando se pretenden utilizar alternativas de manejo de organismos patógenos relacionados con el suelo, no conviene olvidar que en el suelo se desarrollan también gran cantidad de **organismos saprófagos**, que en el caso de los nematodos pertenecen fundamentalmente al grupo de los rhabditidos, siendo su acción fundamental en la dinámica de la materia orgánica, así como los **organismos depredadores** representados por el grupo de los monónquidos, pero especialmente el gran valor bioindicador del grupo de los doriláimidos, que nos pueden señalar el impacto ambiental de las alternativas seleccionadas. Por todo ello, además de las especies parasitas, debemos de tener en cuenta a todos estos grupos si queremos realizar un manejo con criterios ecológicos del suelo fundamentándonos en su **biodiversidad funcional**.

En el caso concreto de la utilización de restos agrarios en biodesinfección de suelos, hemos tomado como modelo la diversidad y virulencia en los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, con especial referencia a las cuatro especies más frecuentes: *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica* (ORTON WILLIAMS 1972, 1973, 1974, 1975, SIDDIQI 2000, KARSSSEN 2002). Para el estudio de la virulencia hemos partido de la aplicación del Test diferencial de Hospederos de Carolina del Norte de TAYLOR & SASSER (1978), teniendo en cuenta la revisión de HARTMAN & SASSER (1985), así como las nuevas razas descritas por FARGETTE (1987) en *M. arenaria* y por RAMMAH & HIRSCHMANN (1993), CARNEIRO *et al.* (2003) en *M. javanica*, así como las de ROBERTSON *et al.* (2006, 2009, 2010) y TORRES *et al.* (2007), que señalan en *M. arenaria* tres razas diferentes y cuatro biotipos, *M. hapla* con dos razas, *M. incognita* siete razas y 19 biotipos y en *M. javanica* cinco razas diferentes, demostrando la gran complejidad que presentan las cuatro especies más frecuentes a nivel mundial de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, especialmente cuando se pretenden manejar sus poblaciones mediante rotaciones de cultivos, con la utilización de

variedades resistentes, sin tener en cuenta que con frecuencia aparecen mezclas de diferentes especies, razas y biotipos incluso en la misma planta.

Se concluye a través del estudio de la distribución en la Península Ibérica de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, principalmente mediante las especies *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica* que han sido estudiadas en los cultivos de Almería, Castilla-La Mancha y Madrid, Extremadura, Murcia y Valencia, la existencia desde el punto de vista biogeográfico de tres elementos estructurales fundamentales. En primer lugar encontramos un elemento representativo de los ambientes templados o componente norte, representado por *M. chitwoodi*, *M. fallax* y *M. hapla*, conjuntamente con las especies formadoras de quistes de los géneros *Globodera* y *Heterodera*, que pueden aparecer principalmente en el norte de la Península Ibérica, así como en el norte de Europa. Este componente norte, necesita en nuestro país de un mayor estudio epidemiológico. El segundo elemento aparece en los ambientes continentales de Castilla-La Mancha, Madrid y Extremadura, representado por la alta frecuencia de *M. arenaria*, encontrándose también *M. incognita* y caracterizándose por la ausencia de *M. javanica* que sólo parece en áreas localizadas de Extremadura. Por último un tercer elemento o componente sur que está caracterizado por la alta frecuencia de aparición de *M. javanica*, especie de ambientes termófilos, aunque también está presente *M. incognita* y en los ambientes de montaña, desarrollándose en las umbrías *M. arenaria*. Este componente sur se presenta en Almería, Murcia, Cataluña, así como en las Islas Baleares y Canarias. Se debe de señalar que desde el punto de vista biogeográfico la Comunidad Valencia se comporta de modo similar al componente centro de la Península por la ausencia de *M. javanica*, destacando la alta frecuencia de poblaciones virulentas de *M. incognita* raza 4 pimiento *Mi*, especialmente en la provincia de Alicante.

Variedades resistentes y manejo. Las variedades resistentes han sido la alternativa para el manejo de nematodos fitoparásitos, especialmente para los formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, que han presentado en los últimos años uno de los mayores éxitos, especialmente para el manejo de *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*, mediante la utilización del gen *Mi* portador de factores de resistencia en tomate (VERDEJO-LUCAS *et al.* 2008, TALAVERA *et al.* 2009), habiéndose seleccionado también en los últimos años diferentes cultivares de pimiento resistentes (BELLO *et al.* 2001, LÓPEZ PÉREZ *et al.* 2004) entre ellos se viene comercializando como portainjerto el cv “Atlante” que ha sido seleccionado en nuestro país.

La caracterización de la virulencia de las poblaciones estudiadas por nuestro grupo de trabajo en Almería, Castilla-La Mancha, Extremadura, Murcia y Valencia ponen de manifiesto que no se han encontrado resistencia en los tomates cvs “Euphrates” y “Nikita” para las poblaciones de *M. arenaria*, *M. hapla* y *M. javanica*, así como para un gran número de poblaciones de *M. incognita*, confirmando los resultados obtenidos principalmente por EDDAOUDI *et al.* (1997), NOLING (2000), ORNAT *et al.* (2001), LÓPEZ-PÉREZ *et al.* (2004), TORRES *et al.* (2007), VERDEJO-LUCAS & SORRIBAS (2008), VERDEJO-LUCAS *et al.* (2008) y TALAVERA *et al.* (2009), que destacan la selección de poblaciones virulentas cuando se cultivan al menos tres veces consecutivas tomates portadores de genes de resistencia. En el caso de la resistencia a pimiento se debe de destacar que todas las poblaciones de *M. javanica* estudiadas son avirulentas, así como las poblaciones de *M. arenaria* raza 2, además de algunos biotipos de *M. incognita* razas 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7. En el caso de *M. arenaria* raza 2 cuando se cultiva de manera consecutiva pimientos se pueden seleccionar *M. arenaria* raza 3 que puede parasitar tanto a pimientos susceptibles como a los resistentes, fenómeno que también puede ocurrir con *M. incognita* (ROBERTSON *et al.* 2006), pero no con las poblaciones de *M. incognita* razas 5, 6 y 7, así como con *M. javanica* raza 1.

Los resultados obtenidos sobre la aparición de virulencia mediante la aplicación de variedades resistentes se confirman cuando se comparan los mapas de distribución de virulencia para los cvs “Nikita” y “Euphrates” en tomate y “Atlante” de pimiento realizados en este trabajo, con el obtenido por PIEDRA BUENA (2004) que ha sido revisado, y que nos ha permitido señalar la ausencia de virulencia para las muestras estudiadas en la provincia de Almería y en la Comunidad de Madrid debido a los sistemas de rotación, además señalar su baja frecuencia en Murcia y Valencia (Fig. 5.3). Estos resultados difieren con los analizados en nuestro trabajo, especialmente cuando se separan la información existente para el cultivo de pimientos y tomates portadores de genes de resistencia (Figs 5.4-6), debiéndose indicar que en el caso de los pimientos resistentes cv “Atlante” la selección de poblaciones virulentas no se ha producido en Madrid, siendo baja en Valencia y Canarias, no habiéndose producido en la zona de monocultivo de tomate de Águilas y Mazarrón (Murcia); en el caso del cultivo de tomate la utilización de variedades resistentes a dado lugar a la selección de poblaciones virulentas en casi todas las áreas estudiadas en el trabajo, prácticamente para todas las poblaciones, con un pequeño porcentaje avirulento en Castilla-La Mancha, Extremadura, Valencia y el Campo de Cartagena en Murcia debido al predominio de cultivos de pimiento, **produciéndose la selección de virulencia a los tomates portadores de genes de resistencia por la ausencia de rotación con otros cultivos.**

Los fenómenos observados en pimientos y tomates con genes de resistencia están ocurriendo también cuando se utilizan otras especies que poseen resistencia como es el caso de la batata cvs “TIS 3290”, variedades resistentes de clavel y de judía. Se ha observado también que todas las variedades de brasicas que se pueden utilizar como abonos verdes en biodesinfección de suelos son altamente susceptibles a los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* estudiadas, no observándose este fenómeno cuando se trabaja con *Tagetes patula* que sólo son susceptibles para algunas poblaciones de *M. hapla*, por lo que pueden ser una alternativa para su utilización dentro de la rotación de cultivos o para su empleo como abonos verdes en biodesinfección de suelos. Por ello se plantea la gran dificultad de utilizar variedades resistentes en el control de nematodos. Cuando se analiza la virulencia se encuentra que todas las poblaciones de *M. arenaria*, *M. hapla* y *M. javanica* parasitan a las variedades portadoras de genes de resistencia, presentando las poblaciones de *M. incognita* una virulencia muy baja, e incluso se ha comprobado que casi todas las poblaciones avirulentas conservadas en la colección de *Meloidogyne* del Dpto de Agroecología se han transformado en virulentas, cuando se cultivan plantas de tomate portadoras de genes de resistencia.

A pesar de la gran variabilidad de la virulencia en las poblaciones estudiadas de las especies de *Meloidogyne* se pueden diseñar métodos de manejo agronómico mediante el empleo de materia orgánica de origen animal o vegetal que reduzcan las poblaciones de nematodos sobre todo por su acción en los procesos de biodesinfección de suelos, dificultando así la selección de poblaciones virulentas e incrementando la durabilidad, y al mismo tiempo que la eficacia de las variedades resistentes en la rotación de cultivos.

Para el manejo agrario de las variedades resistentes se debe de tener muy en cuenta el trabajo de BLOK *et al.* (1997) que señalan que los fenómenos de avirulencia en los nematodos del género *Meloidogyne* son genéticamente dominantes, mientras que se considera que la virulencia está conferida por un alelo recesivo de modo que los individuos virulentos deben de ser homocigóticos, fenómeno que hemos podido confirmar en nuestro trabajo experimental en el caso de las poblaciones estudiadas de *M. arenaria* y *M. incognita*, existiendo varios genes que regulan la virulencia. En este caso no se debe olvidar las dificultades que presentan las especies pertenecientes al género *Meloidogyne* para su manejo mediante la utilización de variedades resistentes al seleccionar poblaciones virulentas, como es el caso de las poblaciones virulentas de *M. incognita* raza 4.

FULLER *et al.* (2008) hacen una revisión de la resistencia en nematodos parásitos de plantas, por considerarlos uno de los mayores problemas de patógenos en la agricultura, y debido a la reducción de los nematicidas químicos por razones medioambientales, sugieren que es necesario desarrollar nuevas alternativas de manejo, al mismo tiempo que diseñar modelos de producción sostenible. Centran sus estudios en los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne*, principalmente en *M. incognita* y *M. javanica*, que se reproducen por partenogénesis. En menor grado hacen referencia *M. arenaria*, *M. hapla* e incluyen además *M. megatyla* que presenta reproducción por anfimixis y *M. naasi* parásito de la cebada. En el trabajo también hacen referencia al comportamiento de los nematodos formadores de quistes, especialmente *Globodera pallida* y *G. rostochiensis* específicos de la patata, *Heterodera glycines* nematodo específico del cultivo de la soja, *H. schachtii* de la remolacha y *H. avenae* de los cereales. Por último señalan otros nematodos como *Rotylenchulus reniformis*, que es el parásito más importante en el cultivo de algodón en EE UU. Entre los nematodos endoparásitos migratorios polípagos estudian *Pratylenchus penetrans*, así como *Radopholus similis*, nematodo que causa problemas graves en platanera. Describen gran número de genes portadores de resistencia de forma natural, planteando el interés de las técnicas de biotecnología en plantas capaces de inhibir proteasas que interfieren en los procesos digestivos de los nematodos mediante la aplicación **de las técnicas de ARN interferente (ARNi)**, que silencien los genes de virulencia en los nematodos parásitos de plantas que se comportan como avirulentos.

Se confirma a través del estudio de los nematodos fitoparásitos del género *Meloidogyne*, que cuando se realiza monocultivo, se produce la selección de determinadas especies y biotipos que hacen que las variedades portadoras de genes de resistencia sean ineficaces (TORRES *et al.* 2007, BELLO 2008). Este fenómeno se ha observado con el empleo de cultivares de tomates y pimientos portadores de genes de resistencia, que han seleccionado en la zona centro de la Península Ibérica biotipos de *M. arenaria* y *M. incognita* virulentos, capaces de parasitar tanto a los pimientos como a los tomates portadores de los genes de resistencia, mientras que en los ambientes termófilos de Andalucía, Murcia y Cataluña, así como en las Islas Baleares y Canarias, donde se ha seleccionado el biotipos de *M. javanica* 1 tomate *Mi*, que no parasitan a ninguno de los cultivares de pimientos estudiados, pudiéndose proponer emplearlos en la rotación de cultivos como alternativa de manejo. Para estudiar el efecto del monocultivo se ha elegido el cultivo de tabaco en Extremadura que ha dado lugar a la selección de distintas razas y biotipos de *M. arenaria*. En este caso es necesario el manejo mediante rotación con cultivos hortícolas, pudiéndose introducir cultivos extensivos como el algodón o el cacahuete, que no son parasitadas por *M. arenaria*. Al mismo tiempo, la rotación de cultivos nos permitiría regular las poblaciones del nematodo específico del tabaco *Globodera tabacum*, que puede causar graves problemas en el cultivo.

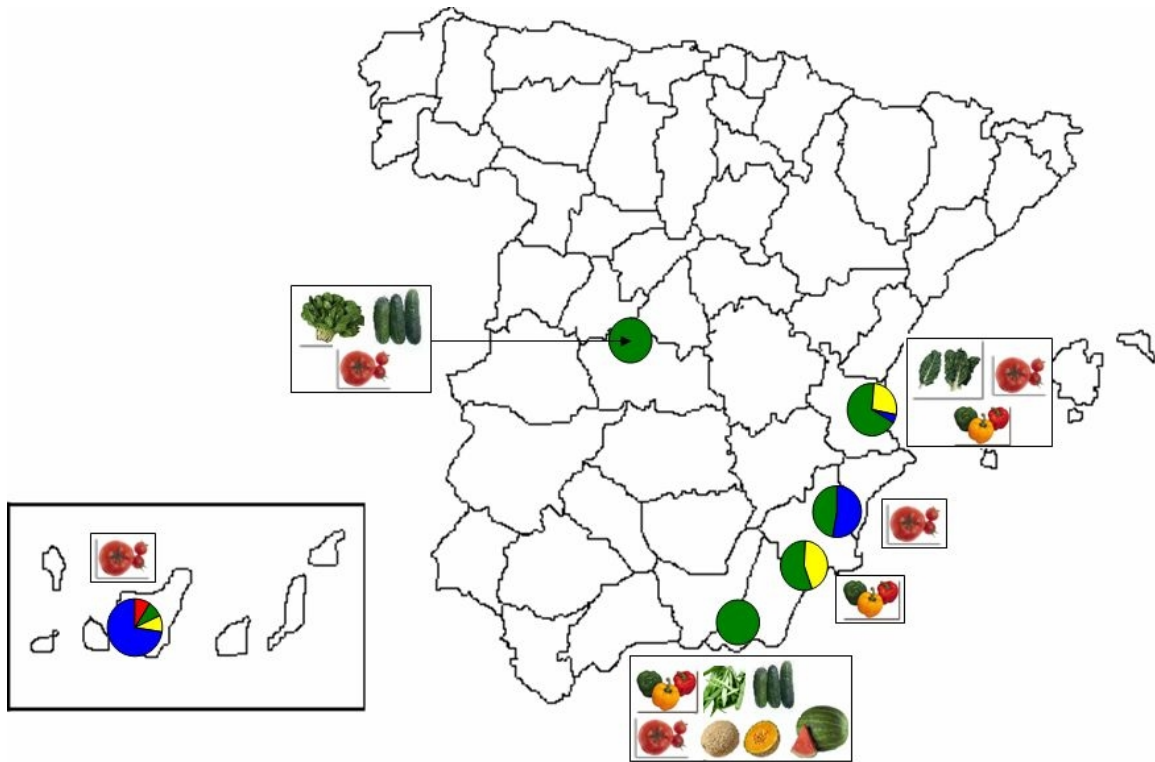


Figura 5.3. Distribución de los grupos de virulencia en *M. incognita* y *M. javanica* en las zonas hortícolas de España (PIEDRA BUENA 2004).

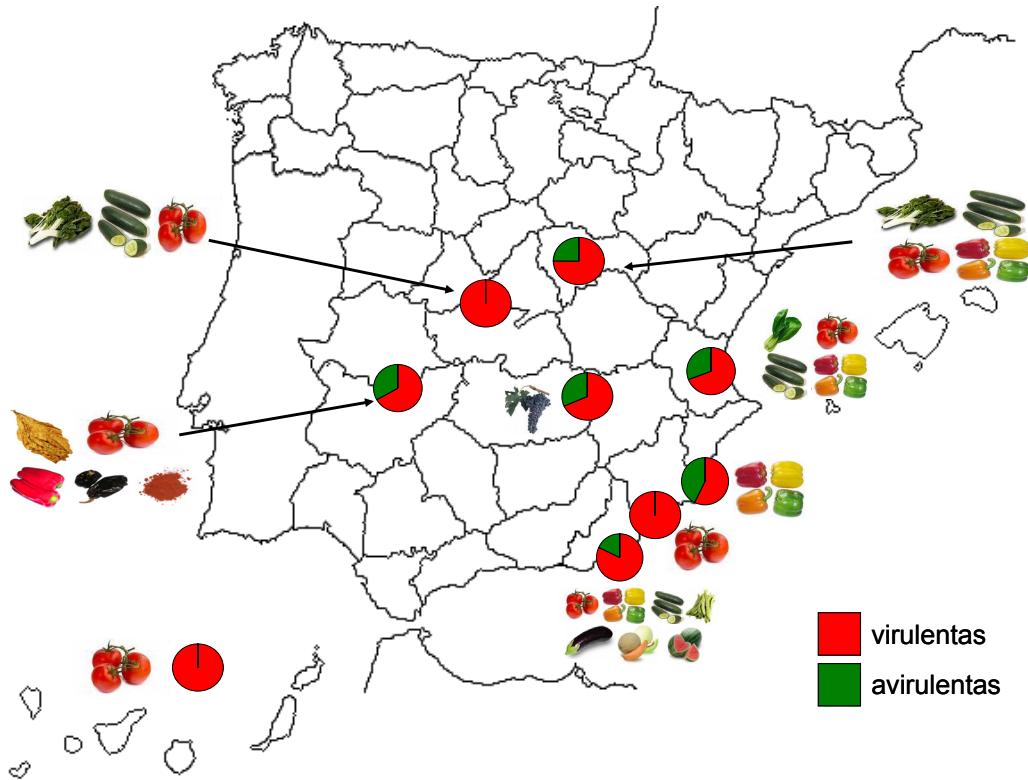


Figura 5.4. Poblaciones virulentas de *Meloidogyne* a cultivares resistentes de pimiento y tomate.

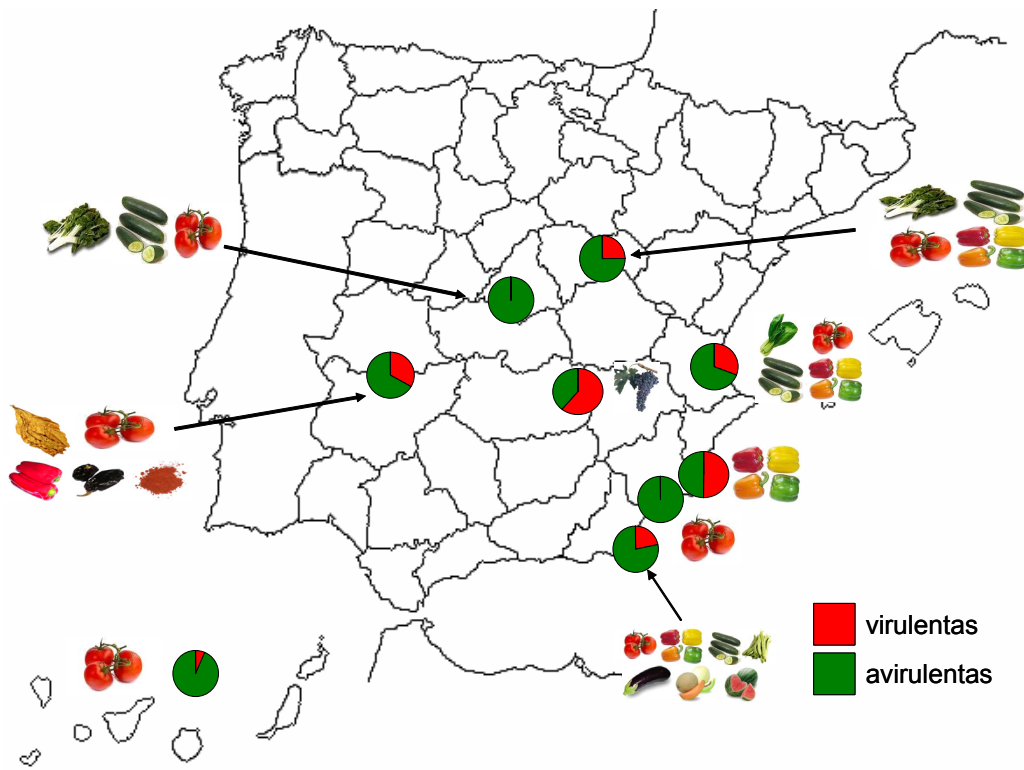


Figura 5.5. Poblaciones virulentas de *Meloidogyne* a pimiento resistente cv "Atlante".

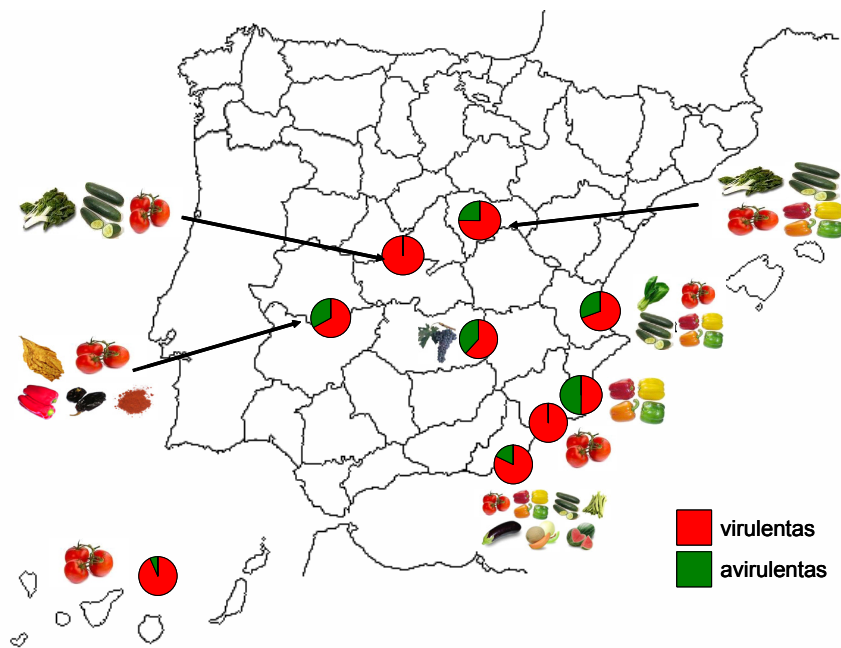


Figura 5.6. Poblaciones virulentas de *Meloidogyne* a los cvs "Euphrates" y "Nikita" portadores del gen *Mi*.

5.3. MANEJO AGRONÓMICO Y DESINFECCIÓN DE SUELOS

El manejo agronómico orientado desde el punto de vista de la ecología de sistemas, plantea en primer lugar que la diversidad, tanto biológica como ambiental o cultural son la clave para la gestión de los sistemas agrarios. En este sentido al tratar de diseñar un sistema de manejo en nematodos ya sea con materiales orgánicos, como con plantas portadoras de genes de resistencia debemos de tener en cuenta que los resultados obtenidos pueden ser muy diversos. Es necesario para ello, tener un conocimiento tanto de los materiales de origen orgánico a utilizar, que pueden ser de naturaleza diversa tanto sólidos como líquidos, así como de las poblaciones de nematodos presentes en el suelo, sin olvidarnos del comportamiento de las plantas portadoras de genes de resistencia.

Los materiales de origen orgánico utilizados para el manejo de los patógenos de los vegetales del suelo suelen ser heterogéneos, no sólo en cuanto a su composición química, sino también en cuanto a su composición microbiológica, así como a su grado de maduración, lo cual puede hacer que su funcionamiento relacionado con la biodesinfección de suelos sea totalmente distinto, por lo que pueden variar los procesos o compuestos que regulan las poblaciones de organismos patógenos. Por otro lado, el suelo es un medio también muy diverso y heterogéneo en relación sobre todo a su composición química, mineralógica, textura, y en cuanto a su biodiversidad. La incorporación de materia orgánica con fines de desinfectarlo puede tener eficacias distintas en función de las distintas características del suelo en el que se realicen los tratamientos.

Por último se deben de tener también en cuenta los patógenos del suelo, puesto que cuando analizamos los nematodos, en el caso de los monocultivos se pueden seleccionar poblaciones de *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* que son altamente virulentas. Se propone el diseño de sistemas de manejo mediante rotaciones con cultivos hortícolas, que deben ser seleccionados teniendo en cuenta las condiciones de cada país o área geográfica, pero sobre todo que se fundamenten en la caracterización previa de especies, razas y biotipos de nematodos. Se han encontrado cultivares de boniato, judías, pimiento y tomate que son resistentes, así como de claveles, debiéndose de tener en cuenta además, de la biodiversidad funcional, la diversidad ambiental que está relacionada directamente con las técnicas de cultivo, pero sobre todo con la cultura agraria. Se encuentran que todas las variedades de pimientos ensayadas son resistentes a *M. arenaria* raza 2 y *M. javanica* raza 1. El algodón es resistente a *M. arenaria*, *M. incognita* raza 1 y 2, *M. javanica*, al mismo tiempo que el cacahuete es resistente a *M. arenaria* raza 2 y 3, *M. incognita* y *M. javanica*. Debemos tener en cuenta que es frecuente la existencia de mezclas de poblaciones de *M. arenaria*, *M.*

incognita y *M. javanica*, que pueden parasitar a pimientos susceptibles, y en ese caso se pueden utilizar como alternativa portainjertos resistentes, existiendo la posibilidad de que con una repetición en su aplicación se seleccionen organismos de suelo que actúen en su biodescomposición, como ocurre con el 1,3-D, que se degrada por la acción de los microorganismos, disminuyendo su eficacia (OU *et al.* 1995, VERHAGEN *et al.* 1996, DUNGAN & YATES 2003).

Los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* constituyen uno de los principales factores limitantes en la producción mundial de los cultivos, especialmente hortícolas. Una vez detectada la infestación del suelo utilizando como indicadores las plantas propias del cultivo, es difícil mantener poblaciones con niveles bajos o suprimirlas sin la aplicación reiterada de tratamientos desinfectantes, ya sean químicos, biológicos o de biodesinfección. Los problemas de nematodos se plantean incluso en cultivos donde se vienen aplicando nematicidas comerciales y utilizando variedades resistentes. El BM hasta su prohibición, por ser destructor de la capa de ozono estratosférica, parecía ser la única técnica capaz de solventar estos problemas, aún así las aplicaciones se realizaban anual o bianualmente en los cultivos.

Las alternativas no son eficaces si no se introducen dentro de un concepto agronómico de manejo, que debe de ser la base para que se incremente su eficacia. Para optimizar su eficacia es necesario el conocimiento del funcionamiento de cada producto utilizado, el método de aplicación, la duración del tratamiento, el comportamiento de las poblaciones de nematodos y la relación con su hospedante. Cuando se armonizan todos y cada uno de los factores señalados anteriormente estamos en disposición de incrementar la eficacia del tratamiento. En muchos casos, por distintas razones como pueden ser cuestiones económicas, socioculturales o ciclo de producción, los tratamientos se han de realizar en condiciones que no son las óptimas. Por lo que se deben de diseñar nuevos programas de investigación para tratar de optimizarlos.

En este apartado vamos a proponer como modelo, desde un punto de vista agronómico, planes de manejo de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* mediante el estudio conjunto de la biodesinfección de suelos con el conocimiento del parasitismo de las poblaciones existentes con respecto a su hospedante. En un principio debemos de conocer cuál es el funcionamiento de los productos biodesinfectantes a utilizar, habiéndose estudiado en el apartado 4.1.1 el efecto de las vinazas de remolacha y de vino en soluciones acuosas con individuos vivos de los nematodos *M. incognita* y *X. index*. En estos ensayos se puede observar como el efecto no es letal, sino biostático, por lo que es necesario prolongar los

tratamientos en el tiempo para aumentar su eficacia, pudiéndose comprobar que la eficacia es distinta según las características del nematodo fitoparásito a manejar. Así el tiempo de exposición en el que se produce la muerte de los individuos a distintas dosis de los subproductos es menor para el *X. index* que para *M. incognita*. Estos parámetros deben de estudiarse pues el tiempo en agricultura en determinadas ocasiones es muy valioso y en muchos casos si se puede disminuir la duración del tratamiento las alternativas se adoptan de manera más eficaz.

Se conoce además que la materia orgánica puede ser fitotóxica cuando se aplica en dosis altas, por ello es necesario estudiar su comportamiento antes de tratar de utilizar los subproductos seleccionados en el campo. Por ello, una vez que se conocen aproximadamente las dosis necesarias que son letales para los patógenos parásitos de plantas mediante las diluciones acuosas, estas se extrapolan al suelo y se realizan experimentos en suelo en condiciones controladas de laboratorio (apartado 4.1.2). En este paso estamos trabajando ya con un medio más similar al que nos vamos a encontrar en la realidad del campo, puesto que se trata de una pequeña porción de suelo. En estos experimentos se seleccionarán las dosis óptimas para emplear en campo mediante análisis de suelo y planta, se estudiará la posible fitotoxicidad existente y la influencia de los subproductos sobre otros grupos de nematodos y oligoquetos (enquitreidos) del suelo. En los experimentos se puede comprobar que las dosis propuestas en el trabajo son eficaces en el manejo de nematodos, encontrando que las vinazas de remolacha son más eficaces que las de vino, además no se observa fitotoxicidad y que la influencia sobre las demás poblaciones de nematodos no son estadísticamente significativas en la mayoría de los tratamientos, si bien de forma general se debe de destacar que las poblaciones de doriláimidos y enquitreidos disminuyen y las de rabdítidos se incrementan (Tablas 4.1-10).

Como se comentó anteriormente en la introducción, existen normativas que restringen el uso de la materia orgánica como puede ser el Real Decreto 261/1996 de 16 de febrero sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. Por ello se deben tratar de adecuar las dosis de los materiales utilizados como biodesinfectantes, o en su defecto realizar estudios de lixiviación de los nitratos. En este sentido FERNÁNDEZ *et al.* (2008) y PASCUAL *et al.* (2008) comprobaron que la lixiviación de NO_3^- en suelos en los que habían incorporado enmiendas orgánicas era muy similar a la que se obtuvo en los suelos en los que no se había incorporado, incluso para dosis de 100 t/ha. En un principio las enmiendas orgánicas se realizaban para mejorar las propiedades físicas y para aportar nutrientes al suelo. Mediante la técnica de biodesinfección también aumentan los contenidos en nutrientes del suelo, pero como se favorece la descomposición de la materia orgánica, hay que estudiar como se incrementan sus valores. Aunque el fin principal de la

biodesinfección de suelos no sea la fertilización, sino el manejo de los patógenos de los vegetales de origen edáfico, se debe tener en cuenta y tratar de armonizar los dos aspectos dentro del sistema de cultivo, para reducir costes en la producción y evitar una contaminación ambiental por nitratos. Así en los ensayos realizados sobre suelo en condiciones controladas de laboratorio utilizando vinazas de remolacha y de vino se observó que se producen diferencias estadísticamente significativas entre los testigos y las distintas dosis. Las vinazas de remolacha a las dosis utilizadas son las que producen mayores aumentos en los niveles de nutrientes. Con ambas vinazas, no se observan aumentos en los valores de N_{total} , el contenido en P_2O_5 asimilable disminuye, ambos parámetros están indicando que en el suelo aumenta la actividad biológica. Sin embargo ambas vinazas producen incrementos en los valores de K^+ . Para el resto de macronutrientes analizados en el apartado, se observa que las vinazas de vino no producen diferencias estadísticamente significativas, sin embargo las vinazas de remolacha incrementa los valores de Mg^{2+} y Na^+ . Por otro lado se deben estudiar los micronutrientes, observando que ambas vinazas aumentan los valores de Fe y Cu asimilable, las vinazas de remolacha los de Mn, mientras que **para algún caso las vinazas de vino disminuyen el Zn asimilable**. El aumento de los valores de Fe asimilable en los que se ha trabajado en la Península Ibérica, es una ventaja pues en estos suelos con un pH elevado se pueden producir carencias. Como principal problema con las vinazas de remolacha nos podemos encontrar que aumentan la CE de los suelos, sin embargo se ha observado que las vinazas de vino la reducen (Tablas 4.79-134), por ello serían recomendable hacer combinaciones entre ambas.

Cuando trabajamos en desinfección de suelos, de forma general lo hacemos sobre los primeros 20 cm, debido a que es la zona en la que se desarrollan la gran mayoría de los sistemas radiculares en los cultivos protegidos. Cuando trabajamos con estiércol como biodesinfectante incorporarlo en los primeros 20 cm no es muy complicado. El problema ocurre cuando queremos realizar desinfecciones a mayor profundidad. En columnas experimentales de lixiviación se comprobó la eficacia en el tiempo de la aplicación de vinazas de remolacha, observando con respecto al testigo que el control de los nematodos fue total hasta los 90 cm de profundidad (Tabla 4.11). Mediante la fertilización podemos comprobar que las vinazas de remolacha en un suelo arenoso de un viñedo de Jumilla (Murcia) son capaces de penetrar entre los 40-50 cm de profundidad sin problemas (Tablas 4.84-86). Esta es una de las grandes ventajas de los subproductos líquidos, pero se debe saber manejar el riego y las dosis a utilizar para poder incorporarlas hasta la profundidad que sea necesaria.

Una vez desarrolladas todas las bases agronómicas en condiciones de laboratorio pasamos a comprobar los resultados obtenidos a nivel campo. Primero es necesario realizar los experimentos en condiciones controladas para luego reproducirlos en campo y no

encontrarnos con problemas. Para ello en el trabajo se han desarrollado experiencias con restos agrarios en cultivos hortícolas bajo plástico en Marchamalo (Guadalajara), Torre Pacheco (Murcia) y San Isidro de Níjar (Almería), así como en la replantación de viñedo en Jumilla (Murcia) y sobre viñedos establecidos en Membrilla, Socuéllamos y Tomelloso (Ciudad Real).

En el túnel experimental del Centro Agrario de Marchamalo se ha trabajado durante tres campañas con el fin de estudiar el efecto de la reiteración del uso de vinazas de remolacha. Durante la primera **se observó que las técnicas de aplicación de materia orgánica combinadas con solarización (biosolarización) constituyen una excelente alternativa de manejo**. Durante la segunda campaña de experimentación, en la que hubo que cambiar algunos tratamientos, excepto aquel en el que se habían obtenido los mejores resultados la campaña anterior y se introdujo un tratamiento con vinazas de remolacha que no se combinó con solarización, se observó que cuando no se utilizaba plástico la eficacia de la biodesinfección disminuyó (Tablas 4.19 y 27). Por ello se puede afirmar que la eficacia de la biodesinfección de suelos es menor cuando no se combinan ambas técnicas. Cuando realizamos tanto la solarización, como la biodesinfección con la aplicación de materia orgánica por si sola son incapaces de controlar nematodos (Tablas 4.13, 19 y 27). Durante la tercera campaña, debido a que el cultivo de tomate seguía produciendo hubo que retrasar en el tiempo los tratamientos a días con menor cantidad de horas de radiación solar, se pudo comprobar que la eficacia de los tratamientos con biosolarización disminuyó (Tabla 4.27). Durante las tres campañas de estudio **no se observó fitotoxicidad en ninguno de los cultivos de acelga y tomate realizados**. Los niveles de producción de las acelgas fueron siempre mayores en los tratamientos con vinazas de remolacha cubiertos con plástico, sin embargo estos resultados no se reproducían sobre el cultivo de tomate, obteniendo unas producciones similares e incluso en algunos casos menores (Tablas 4.25 y 34).

Durante todos los años de experimentación, **se observó que las vinazas de remolacha combinadas con solarización fueron las que mayor eficacia presentan en el manejo de nematodos, mientras que cuando no se combinan con solarización la eficacia disminuye siempre que se comparan con el tratamiento testigo**. Con respecto a la reiteración de la aplicación de vinazas de remolacha y su influencia sobre la fertilidad, se debe destacar que el principal problema era el aumento de la CE del suelo, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el testigo tras el último análisis de suelo realizado después del cultivo de tomate de la Campaña 2007/2008 (Tabla 4.115), observando que su reiteración no produce una acumulación de sales. Resultados similares se observaron con respecto a los metales pesados Cu y Zn (Tabla 4.117). Tras los

análisis de suelo realizados después de cada tratamiento, se **debe destacar además el valor fertilizante de las vinazas de remolacha en K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Fe y Cu**, que deben de armonizarse con el plan de fertilización para mantener la capacidad productiva de los cultivos.

En el invernadero CH del la finca experimental de Torre Blanca (Torre Pacheco, Murcia), que se evaluaron distintos restos agrarios como las vinazas de remolacha y de vino, así como el estiércol fresco de ovino para compararlo con el BM, fumigante del suelo para el que se están buscando alternativas. En este ensayo, después de realizar los tratamientos, **se observó una eliminación total de las poblaciones de juveniles de *M. incognita* cuando se utilizan como biodesinfectantes el estiércol fresco de ovino, las vinazas de remolacha o la mezcla de ambos a mitad de dosis cada una**. En el tratamiento con vinazas de vino se observa una reducción alta, pero no total de las poblaciones de *M. incognita* quedando en el suelo poblaciones bajas. Después de aplicar el BM nos encontramos con un suelo prácticamente inerte, no detectándose ningún individuo de los que es objeto el trabajo (Tabla 4.39). Según transcurre la campaña de cultivo, se va observando que las poblaciones de nematodos son similares para los tratamientos de BM, vinazas de remolacha, estiércol fresco de ovino y la mezcla de los dos últimos a mitad de dosis, encontrándose poblaciones e índices de nodulación mas altos en los tratamientos con vinazas de vino (Tablas 4.41 y 44). Al llegar al final del cultivo, se obtienen los mismos resultados pero con poblaciones e índices de nodulación mas altas. Al analizar todos los resultados obtenidos en conjunto podemos observar que el único tratamiento que difiere de los demás es el de vinazas de vino con las mayores poblaciones de J_2 de *Meloidogyne* e índices de nodulación y con las producciones más bajas (Tablas 4.46 y 47). El tratamiento que mejores resultados obtiene es el que utiliza como biodesinfectantes las vinazas de remolacha mezcladas con estiércol fresco de ovino a las dosis de 0,75 y 1,25 kg/m^2 respectivamente. Cuando analizamos la influencia de los tratamientos en la fertilidad del suelo observamos que todos los tratamientos aumentan los valores de K^+ , Fe, Mn y Zn. Por otro lado, los tratamientos con vinazas de remolacha incrementan los valores de CE y Na^+ , mientras que **el tratamiento con vinazas de vino reduce considerablemente los valores de CE, manteniéndose hasta el final de cultivo**.

En el invernadero comercial de San Isidro de Níjar (Almería), se trató de estudiar la eficacia en el manejo de nematodos de los restos agrarios producidos en la misma finca teniendo en cuenta el sistema de cultivo en suelos enarenados. Para ello, en el “retranqueo” de la capa de estiércol lo que se hace es reducir la dosis de estiércol fresco mezclándolo con los restos de los cultivos de tomate y de sandía producidos en la finca. Además para tratar de mejorar la eficacia en el manejo se complementó con solarización y con distintas dosis de vinazas de

remolacha debido a que el peculiar sistema de manejo en suelos enarenados no permite la mezcla de materia orgánica sólida en la capa superficial de arena. Al ser un invernadero comercial se comparan el “retranqueo” combinado con solarización, con el “retranqueo” combinado con solarización y distintas dosis de vinazas de remolacha. Se puede observar que la eficacia en la desinfección del suelo se incrementa según aumenta la dosis de vinazas de remolacha (Tablas 4.48, 49 y 52).

Por otro lado, para mejorar la eficacia de las alternativas estudiadas en cultivos bajo plástico y para armonizar el sistema, conviene conocer las poblaciones de nematodos presentes en cada situación. La caracterización de las poblaciones de *Meloidogyne* existente en cada suelo nos permite determinar que la utilización de plantas resistentes o no hospedadoras puede ser una alternativa eficaz para el manejo de nematodos, siempre que mantengamos libre el cultivo de flora arvense, en la cual se pueden desarrollar las poblaciones de modo exponencial. En este sentido debemos tener en cuenta también las posibles plantas asociadas a nuestro sistema de cultivo como puede ser la presencia de higueras, plantas de vid e incluso olivos, que también son susceptibles. El principal problema nos lo podemos encontrar en aquellos casos en los que en el suelo existen poblaciones complejas formadas por diferentes especies y biotipos que pueden estar presentes incluso en una misma planta, donde el establecimiento de un plan de rotación de cultivos para el manejo de las poblaciones de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* es más complejo y en muchos casos inviable.

En este trabajo el conocimiento del parasitismo de los nematodos frente a las plantas se ha estudiado principalmente en la relación *Meloidogyne*-hospedador utilizando como modelo el estudio de esta relación con plantas de tomate portadoras del gen *Mi* y de pimiento portadoras de genes de resistencia. Los cvs de tomate utilizados han sido “Nikita” y “Euphates”, portadores del gen *Mi*, mientras que los de pimiento han sido “Carolina Wonder” y “Atlante” portadores de resistencia. Este test de hospedadores siempre puede ser modificado con otras especies y cultivares, en función de cual sea el cultivo que vayamos a realizar en nuestro sistema productivo. Para ello es muy sencillo su realización y modificación, pudiéndose incluso realizar en condiciones de campo, en épocas en las que la temperatura sea favorable para el desarrollo de las especies formadoras de nódulos del género *Meloidogyne*, siendo sólo necesarias las semillas o plántulas que queremos estudiar y unas macetas en las cuales introduciremos el suelo infectado de nuestra parcela a cultivar. Con este método en al menos mes y medio de tiempo podremos comprobar si el cultivo que vamos realizar es susceptible o resistente a las poblaciones de nuestro campo. Para ello además conviene realizar muestreo exhaustivos del campo, poner repeticiones para que nos ayuden a confirmar nuestros resultados, e identificar de que parte del campo proviene la muestra de suelo, y siempre poner

alguna planta susceptible para confirmar la presencia de nematodos. Pensamos que este método puede ser fácil y sencillo para posteriormente desarrollar a nivel de técnico, pero sobre todo del agricultor, para mejorar la eficacia de las alternativas propuestas en el manejo de nematodos formadores de nódulos.

Se establecerán una serie de conceptos entre la relación *Meloidogyne*-hospederos, cuando estos últimos son plantas de tomate o de pimiento, por ser los cultivos hortícolas de mayor interés puesto que son los que más demanda tienen en el mercado. Así si las poblaciones presentes en nuestros cultivos son de las especie *M. incognita*, y pertenecen a los biotipos “tomate”, es decir son poblaciones que no parasitan a las plantas de tomate o pimiento portadoras de genes de resistencia, ya sean de la raza 1, 2, 3 y 4. En estos casos se puede diseñar un plan de rotación de cultivos en los que la presencia de plantas portadoras de genes de resistencia sea una alternativa. Ahora bien se ha observado que la reiteración de las plantas con genes portadores de resistencia al final lo que produce son poblaciones capaces de parasitar a las plantas portadoras de genes de resistencia. En otros casos, como por ejemplo en Villa del Prado (Madrid), tras un muestreo en las raíces del cultivo de pepino, se encontró que la población mayoritaria que parasitaba al cultivo era *M. incognita* 1 tomate, aunque después del siguiente cultivo que fue de tomate con un cultivar portador del gen *Mi* la población que se encontró mayoritariamente fue *M. arenaria*, que como parasita a los tomates portadores del gen *Mi*. En este caso se produjo un cambio de la especie de nematodos debiéndose modificar la alternativa a utilizar para el control de la enfermedad mediante genes resistentes. Se supone que la población de *M. arenaria* existía, siendo bajas por lo que no se detectó, apareciendo y desarrollándose con facilidad, debido a que *M. incognita* no era capaz de infectar a las plantas de tomate. En este caso convendría que se eliminase la flora arvense para reducir la población existente de *M. incognita*, capaz de reproducirse sobre *Portulaca oleracea* que era la especie que predominaba. En este sentido al analizar las especies de *Meloidogyne* existentes en España, se encontró que en las zonas donde predomina el monocultivo de tomate, como en la zona de Águilas-Mazarrón o en Canarias y donde generalmente se utilizan plantas con genes de resistencia, se observa que la especie que predomina es *M. javanica*. Por un lado, esta especie es exigente de temperaturas altas y por el otro es la especie que menor cantidad de °C día necesita para completar su ciclo, por ello es la especie del género *Meloidogyne* que se desarrolla con más facilidad, reduciendo las poblaciones de las demás especies, a pesar de tener altos requerimientos de temperatura. Pero no siempre las plantas que vamos a cultivar han de ser tomate o pimiento, salvo en zonas especializadas en un determinado cultivo.

Por otro lado, en el trabajo se ha observado que todas las poblaciones de *M. arenaria* y de *M. javanica* son capaces de parasitar a los tomates portadores del gen *Mi*. En estos casos la

utilización de este tipo de tomates no sería una alternativa eficaz para el manejo de estos nematodos formadores de nódulos. Sin embargo, se ha podido comprobar que las poblaciones de *M. arenaria* razas 2 y 3, así como todas las poblaciones de *M. javanica* no parasitan a los pimientos comerciales existentes, ya sean susceptibles o portadores de genes de resistencia. En estos casos la simple introducción en la rotación de un cultivo de pimiento ayudaría a reducir las poblaciones. Otro aspecto a tener muy en cuenta son los niveles de producción. Puede que después de la utilización de un biodesinfectante la producción sea similar a la del testigo, al que hemos realizado alguna práctica cultural. En muchos casos se deben de observar los efectos de los tratamientos a lo largo del tiempo.

Otro caso es el de la presencia de *M. hapla*, donde se ha podido comprobar que todas las poblaciones estudiadas de España parasitan a los tomates y pimientos portadores de genes de resistencia. En las principales áreas productoras de tomate y pimiento de España no se ha detectado la presencia de *M. hapla*, salvo en zonas testimoniales. Los principales problemas se han detectado en los cultivos de fresa. Para las zonas productoras de fresa (Huelva) por sus características climáticas se pueden cultivar cucurbitáceas siempre que se puedan injertar sobre pies de *Citrullus lanatus* cv “Charleston Grey”, una cucurbitácea que en España no se comercializa y a la cual no parasita *M. hapla*. Otro aspecto a estudiar en los cultivos bajo plástico es la distribución de la plantación en el tiempo y en el espacio. Los cultivos bajo plástico tienen unas determinadas estructuras que condicionan la distribución de las plantas para optimizar tanto el espacio como la inversión en infraestructuras. Además poseen otra serie de estructuras auxiliares que sirven de apoyo al material de entutorado que condicionan aún más la distribución de muchos cultivos en el espacio. Como consecuencia de esto, los cultivos se desarrollan en las mismas franjas del invernadero, dejando otra serie de franjas en las que nunca hay cultivo. Esto se pone de manifiesto cuando en nuestra estructura bajo plástico realizamos monocultivo. Pues bien al desarrollarse las plantas siempre sobre la misma franja de suelo nos encontramos, que aunque labremos e intentemos homogeneizar el suelo, la mayoría de los individuos de una población se distribuyen en esa franja, mientras que en el resto en los pasillos las poblaciones son menores, incluso después de haber homogeneizado el suelo al realizar labores.

Una vez optimizados y armonizados todas las observaciones realizadas en este apartado del trabajo estaremos en disposición de mejorar la eficacia de las alternativas de control a los fumigantes del suelo, a través de la gestión de los cultivos con criterios agronómicos (DÍEZ-ROJO *et al.* 2006, 2008a,b,c, 2009; DÍEZ-ROJO 2010).

En el trabajo también se estudia la replantación de viñedo mediante el uso de estiércol fresco caprino. Anteriormente la mayoría de desinfecciones se realizaban con 1,3-D, fumigante que se descompone por la acción de los microorganismos, por lo que disminuye su eficacia en el tiempo (OU *et al.* 1995, VERHAGEN *et al.* 1996, DUNGAN & YATES 2003). Uno de los objetivos fue estudiar la eficacia de la biodesinfección en un viñedo de Jumilla (Murcia) y por otro lado estudiar la reducción de las poblaciones de *X. index* en viñedos establecidos para tratar de que la dispersión del GFLV sea menor y más lenta. En la replantación del viñedo era de obligado cumplimiento la desinfección del suelo, recibiendo los agricultores subvenciones por ello (GOITIA 2004). Debido a este problema sobre todo en los viñedos de agricultura ecológica se planteo la posibilidad de estudio de la biodesinfección de suelos como alternativa a los fumigantes químicos. Para ello, se trabajó en la replantación de un viñedo utilizando estiércol de caprino. Durante el estudio se pudo comprobar que en las zonas tratadas con estiércol se redujeron las poblaciones de *X. index*. Sin embargo no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el testigo, por lo que se supone una buena eliminación del viñedo anterior como se realizó en el trabajo y un tiempo de barbecho pueden ser una buena alternativa al uso de fumigantes químicos en la replantación del viñedo.

Por último en las localidades de Membrilla, Socuéllamos y Tomelloso en las que se trabajo sobre viñedos establecidos incorporando vinazas de remolacha y de vino para reducir las poblaciones de *X. index*, nematodo transmisor del virus GFLV, se pudo comprobar tras la reiteración de los experimentos que la aplicación de estos subproductos reducía sus poblaciones. Sin embargo fue la primera campaña de estudio la que mejores resultados obtuvo sobre todo porque las poblaciones eran mayores. **Al final del tercer año la utilización de vinazas de remolacha redujo en la totalidad las poblaciones de *X. index***, mientras que las distintas dosis de vinazas de vino utilizadas no fueron tan eficaces (Tablas 4.61-76), por lo que se podría optimizar mediante mezclas con vinazas de remolacha.

6. CONSIDERACIONES FINALES

1. Se pone de manifiesto que en el desarrollo de cualquier alternativa para el manejo de organismos patógenos causantes de enfermedades en sistemas agrarios, como es el caso de la **biodesinfección de suelos mediante el empleo de restos agrarios**, es necesario un conocimiento profundo de las características agroecológicas del sistema agrario y de los organismos que se pretenden regular. Para ello se deben estudiar cuáles son los factores limitantes, con el fin de poder **establecer las bases agronómicas que nos permitan realizar una gestión adecuada de los cultivos**, dentro de un concepto dinámico y en el que a su vez se puedan modificar de modo flexible los protocolos de actuación, ya que las metodologías propuestas deben de ser de aplicación fácil en campo y rentables económicamente.
2. Se propone a los nematodos fitoparásitos como modelo de organismos de origen edáfico patógenos de vegetales, para determinar la viabilidad de la biodesinfección de suelos, ya que estos presentan una gran diversidad, virulencia e influyen en el rendimiento de los cultivos. Los formadores de nódulos endoparásitos pertenecientes al género *Meloidogyne* por ser polífagos presentan dificultad para su manejo mediante rotaciones de cultivo, al contrario de las especies formadoras de quistes de los géneros *Globodera* y *Heterodera* que son específicos por lo que las rotaciones de cultivo pueden ser una alternativa. Por otro lado, se debe considerar que los nematodos endoparásitos y ectoparásitos polífagos suelen estar en interacción con otros organismos patógenos como hongos, bacterias y virus, entre ellos se destaca *Xiphinema index* transmisor del virus del GFLV en la vid.
3. Se confirma a través del estudio de los nematodos fitoparásitos del género *Meloidogyne* que, cuando se realiza monocultivo, se produce la selección de determinadas especies y biotipos que pueden parasitar a las plantas portadoras de genes de resistencia, por lo que dejan de ser una alternativa de manejo al ser aplicada de modo aislado. En las áreas termófilas de Andalucía, Baleares, Canarias, Cataluña o Murcia, donde se realiza monocultivo de tomate, se ha seleccionado el biotipo de *Meloidogyne javanica* 1 tomate *Mi* que no parasita a los cultivares de pimientos estudiados, pudiendo estos cultivos ser una alternativa de manejo cuando se introducen dentro de la rotación. Por otro lado en la zona Centro y Levante de la Península se han seleccionado biotipos de *M. arenaria* y *M. incognita* capaces de parasitar tanto a los pimientos como a los tomates portadores de genes de resistencia.

El monocultivo de tabaco en Extremadura ha dado lugar a la selección de distintas razas y biotipos de *M. arenaria*, que no parasitan a cultivos como el algodón o el cacahuete. Por todo ello, habría que profundizar en el estudio del valor funcional de los cultivos en la sostenibilidad de los sistemas agrarios.

4. Se demuestra a través del estudio de la distribución de los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en la Península Ibérica la existencia desde el punto de vista biogeográfico de tres elementos estructurales fundamentales, utilizando principalmente las especies *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica* como modelo. En primer lugar encontramos un elemento representativo de los ambientes templados o **componente norte**, representado por *M. chitwoodi*, *M. fallax* y *M. hapla*, conjuntamente con las especies formadoras de quistes de los géneros *Globodera* y *Heterodera*, que aparecen en el norte de la Península Ibérica y Europa. El segundo elemento **componente centro** aparece en los ambientes continentales de Castilla-La Mancha, Extremadura y Madrid, representado por la alta frecuencia de *M. arenaria*, encontrándose también *M. incognita* y caracterizándose por la ausencia de *M. javanica* que sólo aparece en áreas localizadas de Extremadura. Por último un tercer elemento o **componente sur** en Almería, Murcia, Cataluña, Islas Baleares y Canarias, que está caracterizado por la alta frecuencia de *M. javanica*, especie de ambientes termófilos, aunque también está presente *M. incognita*. Se debe señalar que desde el punto de vista biogeográfico la Comunidad Valencia se comporta de modo similar al componente centro de la Península por la ausencia de *M. javanica*, destacando la alta frecuencia de poblaciones virulentas de *M. incognita* raza 4 pimiento *Mi 3* en Alicante.
5. Es necesario realizar un estudio previo que nos permita caracterizar la virulencia de los nematodos formadores de nódulos en relación con los cultivos a utilizar en la rotación, conociendo así su funcionalidad para que la utilización de cultivares portadores de genes de resistencia puedan ser una alternativa eficaz y complementaria. El caso de máxima biodiversidad funcional en la virulencia lo hemos encontrado en *M. incognita*, donde se describen siete razas y 19 biotipos diferentes en función del test de HARTMAN & SASSER (1985) y sus modificaciones posteriores (ROBERTSON *et al.* 2006, 2010, TORRES *et al.* 2007). Se demuestra que los cultivares de batatas “TIS 3290 y TIS 9162” son portadores de genes de resistencia, pudiéndose incluso describir nuevos biotipos a partir de ellos cuando se ensayan las distintas poblaciones, lo que nuevamente nos permite señalar la gran complejidad en la virulencia que presentan estos nematodos.

6. Resulta de gran interés el investigar el hecho de que todas las poblaciones de *M. arenaria*, *M. hapla* y *M. javanica* son virulentas a las variedades de tomate portadoras del gen *Mi*. Por otro lado todas las poblaciones estudiadas de *M. arenaria* raza 2, *M. javanica* raza 1 y *M. incognita* razas 5, 6 y 7 no parasitan a los pimientos estudiados, sean o no portadores de genes de resistencia. Por último es de gran interés la resistencia que presenta el algodón a las poblaciones de *M. arenaria*, *M. hapla* y *M. javanica*, así como a las razas 1, 2, 5 y 6 de *M. incognita*.
7. Es necesario la selección de criterios agronómicos para gestionar y regular la complejidad de los problemas planteados por los nematodos fitoparásitos y otros organismos patógenos, sobre todo ante la dificultad de encontrar alternativas eficaces de manejo, ya sean químicas o biológicas, con el fin de que la durabilidad de las alternativas persista en el tiempo, así como para la optimización de la eficacia de la biodesinfección de suelos, ya que se utilizan materiales que suelen ser heterogéneos. Mediante estudios de ecología de los sistemas agrarios debemos definir cuáles son los elementos y procesos claves para la gestión de los agrosistemas, centrándonos principalmente en el **manejo de la diversidad**, sobre todo funcional y ambiental ya que ambas están relacionadas directamente con las técnicas de cultivo (**diversidad cultural**).
8. Todos los materiales orgánicos ensayados como biodesinfectantes mostraron un potencial elevado para reducir las poblaciones de nematodos fitoparásitos. Su eficacia mejora cuando la **biodesinfección** de suelos se combina con la solarización (**biosolarización**) mediante el uso de cubiertas especialmente de plástico, que por si sola presenta una eficacia menor. El estiércol fresco de ovino o caprino así como las vinazas de remolacha son los biodesinfectantes utilizados que mayor eficacia presentan en el manejo de nematodos. Las vinazas de vino también reducen las poblaciones de nematodos fitoparásitos, pero deben de optimizarse los métodos de aplicación.
9. La **biodesinfección de suelos** no resultó perjudicial para los nematodos de vida libre, así como para los oligoquetos del grupo de los enquitreidos como lo puede ser el BM, fumigante con acción esterilizante que se venía utilizado en los últimos años. Se observó que las poblaciones de nematodos saprófagos del grupo de los rhabdítidos por lo general se vieron favorecidas con los aportes de materiales orgánicos. El grupo de los doriláimidos sin embargo se vio afectado, disminuyendo las poblaciones, pero sin

- encontrarse diferencias estadísticamente significativas con respecto a los tratamientos testigo, observándose al final de las campañas que las poblaciones se recuperan. El esquema visual del índice de nodulación de PAGE & BRIDGE (1980), se presenta como la técnica más adecuada y fiable de análisis en campo de la eficacia de la desinfección de suelos. Se trata de una técnica de fácil aplicación que permite obtener datos fiables de los niveles de infestación y distribución de los nematodos del género *Meloidogyne* dentro de un cultivo sin necesidad de realizar análisis en laboratorio. Los análisis de laboratorio son más adecuados para estudiar la eficacia de los tratamientos en suelo.
10. En la replantación del viñedo para el manejo de *X. index*, nematodo vector del virus del GFLV, es de suma importancia una buena eliminación del material vegetal de la plantación anterior, sobre todo de las raíces vivas que pueden actuar como reservorio de virus y producir una nueva reinfección en el viñedo. La aplicación de una mezcla de estiércol fresco de caprino combinado con gallinaza (proporción 7:3) a la dosis de 50 t/ha sin la utilización de una cubierta plástica, resultó eficaz en el control de *X. index*, cuando ésta se combinó con al menos dos años de barbecho. Para evitar que los nematodos se desplacen en profundidad se recomienda la aplicación del estiércol inmediatamente después del arranque del viñedo, preferentemente en primavera aprovechando las lluvias que favorecen la descomposición de la materia orgánica en campo y la formación de gases u otros procesos reguladores de los organismos fitoparásitos.
 11. En los tres viñedos estudiados en la provincia de Ciudad Real en los términos municipales de Membrilla, Socuéllamos y Tomelloso, además de la presencia de *X. index* y del virus del GFLV se ha detectado la presencia de *M. arenaria* que puede causar problemas graves en la reconversión del viñedo sobre todo a cultivos hortícolas de regadío como el melón. En ellos la aplicación de subproductos agrarios líquidos como las vinazas de vino y remolacha durante la primera campaña permitieron una disminución de los nematodos fitoparásitos *X. index* y *M. arenaria*. Mediante estas técnicas de manejo se pretende además evitar la propagación del virus para que la plantación sea productiva durante más años y proponer técnicas que favorezcan una posible replantación.
 12. Todos los restos agroindustriales utilizados en **biodesinfección del suelo** incrementan la fertilidad de los suelos, por lo que se debe de tener en cuenta a qué parámetros afecta para proponer un plan de fertilización en función de las necesidades de los

cultivos. Se debe destacar que todos los materiales utilizados en el trabajo producen incrementos en K^+ o Fe asimilable. Por otro lado se ha observado que las vinazas de vino disminuyen la CE, mientras que las de remolacha la pueden incrementar. Sin embargo al finalizar los cultivos este aumento de la CE no es tan patente en los tratamientos con vinazas de remolacha no observándose problemas de acumulación de Na^+ en los suelos, mientras que el descenso si se mantiene en los tratamientos con vinazas de vino. La aplicación reiterada de vinazas de remolacha o de estiércol no ha provocado la acumulación de metales pesados como Cu y Zn, a pesar de que sus valores se incrementan después del tratamiento.

En el trabajo se han estudiado diversas alternativas al uso del BM u otros fumigantes del suelo, observándose que estas son eficaces. Sin embargo, los avances obtenidos nos pueden plantear nuevos interrogantes que necesiten de nuevas investigaciones para un manejo más racional de las alternativas propuestas. En un futuro las nuevas investigaciones para el manejo de nematodos se deben centrar en mejorar la eficacia de las alternativas estudiadas de manera que se pueda armonizar el conocimiento científico con la realidad agraria. En este sentido, se debe profundizar en el estudio de cuáles son los mecanismos, procesos o sustancias que causan la disminución de los organismos patógenos y a partir de ellas tratar de optimizar los métodos de aplicación. Esta línea de actuación, se debe complementar con conocimientos de agronomía que son la base del funcionamiento de los sistemas agrarios, mediante un enfoque en el que la cultura agraria tradicional de cada área sea tenida muy en cuenta.

RESUMEN

Se viene considerando a los sistemas agrarios entre los principales factores de impacto ambiental, especialmente por el uso de productos químicos para el control de plagas y enfermedades, destacando en primer lugar el impacto de fumigantes químicos del suelo, como el bromuro de metilo (BM), puesto que gran parte se emite a la atmósfera y destruye la capa de ozono estratosférico. Por ello, una de las preocupaciones en la gestión de los sistemas agrarios es encontrar alternativas que no impacten sobre el ambiente y la salud de los seres vivos. Por otro lado, la utilización de variedades resistentes con frecuencia ha dado lugar a la selección de poblaciones virulentas que son de difícil manejo. Se plantea un cambio de modelo, que basado en criterios agronómicos, permita a través de los principios agroecológicos de estructura y función identificar elementos y procesos claves para lograr la estabilidad del agrosistema. En el caso de los fumigantes del suelo la búsqueda de alternativas se centra en la materia orgánica y los subproductos agrarios que con su descomposición en el suelo producen gases y sustancias biocidas ó biostáticos que pueden regular las poblaciones de organismos parásitos o patógenos, estableciendo el concepto de **biodesinfección de suelos** que se debe complementar con el manejo de la diversidad, tanto biológica (**biodiversidad funcional**) como ambiental.

Se ha elegido como modelo en el desarrollo de la biodesinfección a los nematodos del suelo, puesto que están representados no sólo por fitoparásitos, sino también por saprófagos de interés en la descomposición de la materia orgánica, doriláimidos que actúan como bioindicadores, e incluso depredadores. Los biodesinfectantes ensayados han sido sólidos como estiércoles y restos de cosecha, líquidos como las vinazas de la industria del alcohol, teniéndose en cuenta también los alpechines de la industria olivarera y los purines de los sistemas ganaderos. Se ha comenzado por establecer dosis y la duración del proceso “*in vitro*” y en suelo en condiciones de laboratorio, para después trabajar en campo, tanto en cultivos hortícolas protegidos como en extensivos de Almería, Castilla-La Mancha, Extremadura, Madrid, Murcia y Valencia. El trabajo se ha centrado en los nematodos endoparásitos del género *Meloidogyne*, tratando de conocer además su estructura biogeográfica, razas y biotipos, como base para elaborar protocolos de manejo, determinando su efecto sobre saprófagos, depredadores y bioindicadores del suelo, complementándose con el manejo de *Xiphinema index*, un nematodo ectoparásito vector del virus GFLV en la vid. Se tienen en cuenta también los efectos de la biodesinfección en la fertilidad del suelo y en la producción para mantener la sostenibilidad del sistema.

La biodesinfección de suelos incrementa su eficacia cuando se tienen en cuenta criterios agronómicos en relación con su manejo, mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos, reduciendo el consumo de agua y fertilizantes. La materia orgánica con una C/N 8-20 puede ser eficaz en biodesinfección de suelos, siendo de naturaleza diversa, tanto sólida como líquida, que en un contexto dinámico del proceso da lugar a la generación de gases como ocurre con la **biofumigación**.

Su eficacia aumenta si se combina con la solarización (**biosolarización**), siendo necesarios niveles de humedad adecuados que faciliten la descomposición de la materia orgánica y la difusión en el suelo de las sustancias producidas. Por lo general, su **efecto es biostático**, por ello los gases deben retenerse en el suelo durante varios días, ejerciendo una acción selectiva en relación con los organismos del suelo, produciendo el incremento de saprófagos. El principal factor limitante son los costes de transporte de los biodesinfectantes, por ello se deben emplear recursos locales. Se demuestra que gran parte de nuestros sistemas agrarios, y en especial las prácticas relacionadas con la gestión de materia orgánica, se fundamentan en procesos de biodesinfección de suelos. Son necesarios criterios agronómicos para regular los problemas que plantean los organismos patógenos de los vegetales, ante la dificultad de encontrar alternativas, y debido a la heterogeneidad de la materia orgánica, siendo fundamental además estudios de agroecología para manejar la diversidad del sistema a través de las técnicas de cultivo.

Palabras clave: nematodos, estiércol, restos de cultivos, vinazas, horticultura, viticultura.

SUMMARY

DÍEZ ROJO MA, LÓPEZ PÉREZ JA, URBANO TERRÓN P, BELLO PÉREZ A. *Soil Biodisinfection and Agronomic Management*. Ministerio de Medioambiente y Medio Rural y Marino, Madrid, 407 pp.

Agrarian systems are considered to be one of the main factors effecting the environment, due to the use of chemicals products in the control of pests and diseases. Chemical soil fumigants such as methyl bromide (MB) should be emphasized, since it is emitted into the atmosphere destroying the stratospheric ozone layer. Therefore, a major concern in the management of agricultural systems is to find alternatives with reduced impacts on the environment and human health. Furthermore, the use of resistant varieties has often led to the selection of virulent populations that are difficult to manage. A change in the model is proposed, based on agronomic criteria, allowing through agroecological principles of structure and function to identify key elements and processes for achieving stability in agrosystems. In the case of soil fumigants, the search for alternatives focuses on the use of organic and agricultural by-products which during decomposition in soil liberate gases and other substances producing biocides or biostatics that may regulate populations of parasitic organisms or pathogens, establishing the concept of **soil biodisinfection** that should complement the management of biological (**functional biodiversity**) and environmental diversity.

Soil nematodes are chosen as a model for the development of soil biodisinfection since this group does not only include phytoparasitic but also saprophytic nematodes which are of interest in the decomposition of organic matter, as well as dorylaimids and predators which act as biomarkers. The biodisinfectants which are solid products such as manures and crop residues, liquids such as vinasses derived from the alcohol industry, alpechines from the olive industry and slurry from livestock systems. Initial work established dose and duration of the process *in vitro* and in soil under laboratory conditions, and later the results was transferred to the field, in both protected vegetable crops and extensive systems in Almeria, Castilla-La Mancha, Extremadura, Madrid, Murcia and Valencia. The work has focused on endoparasitic nematodes of the genus *Meloidogyne*, establishing their biogeographical structure, races and biotypes, as a basis for management protocols, determining their effect on saprophytes, predators and soil bio-indicators, complimented by the management of *Xiphinema index*, an ectoparasitic nematode vector of the GFLV virus in grapevines. The effects of biodisinfection on soil fertility and crop production are also taken into account.

Soil biodisinfection increases its effectiveness when taking into account agronomic criteria with regard to their management, improving the physical, chemical and biological properties of soil, reducing both water and fertilizer consumption. Organic matter with a C/N 8-20 was effective in soil biodisinfection,

using both solid and liquid products, generating gases, as in the case of **biofumigation**. The effectiveness is increased when combined with solarization (**biosolarization**) where appropriate humidity levels are necessary to facilitate the decomposition of organic matter and diffusion in the soil of the substances produced. In general, the effect is biostatic, therefore the gases must be retained in the soil for several days, exerting a selective action in relation to soil organisms, increased the number of saprophytes. The main limiting factor is the cost of transporting the biodisinfectants, therefore the use of local resources is important. It is demonstrated that much of agricultural systems, particularly the management practices associated with organic matter, are based on soil biodisinfection processes. Agronomic criteria are required to regulate the problems posed by plant pathogens. Given the difficulty to find alternatives, and because of the heterogeneity of organic matter, fundamental studies of agroecology are needed to manage the diversity of agrosystems through cultivation techniques.

Key words: nematodes, manure, crop remain, vinasses, horticulture, viticulture.

AGRADECIMIENTOS

Debemos dar las gracias a todos los compañeros del antiguo Departamento de Agroecología, Centro de Ciencias Medioambientales (CSIC), por su gran apoyo técnico y científico, pero sobre todo por su gran apoyo moral, que en la mayoría de los casos es lo más importante. Ellos han sido los verdaderos artífices del trabajo. Mención especial merece C. MARTÍNEZ MARTÍNEZ por su enorme esfuerzo en los trabajos realizados en campo y laboratorio. La Dra M. ARIAS DELGADO, a punto de jubilarse cuando comenzó el trabajo siempre ha sido una gran ayuda, el Dr L. ROBERTSON colaboró en la determinación de las especies del género *Meloidogyne* mediante técnicas moleculares, y aportó consejos científicos, Dra S. ARCOS COBACHO estudió la influencia de los tratamientos sobre la biodiversidad de suelo, Dr A. GARCÍA ÁLVAREZ gran consejero, Dra A. PIEDRA BUENA DÍAZ por su información sobre la virulencia de las especies del género *Meloidogyne*, Dr M. ESCUER por su colaboración en la determinación de especies, D. J.M. CARREÑO MEDINA por su preparación de muestras, D. V. GARCÍA DORADO, sin el cual la estadística no hubiese sido posible, Dña ROSA GONZÁLEZ LÓPEZ y Dña M^a del MAR LÓPEZ BORREGO por su gran ayuda técnica, a V. LÓPEZ SÁNCHEZ por los aspectos administrativos, R. SANZ DE LA MORENA por su colaboración en Jumilla, D. F. SERRANO COMINO y Dr J.L. DE LA HORRA RUÍZ por sus recomendaciones y trabajos en la caracterización de suelos, M. FIGUEREDO e I. CASTRO LIZAZO que estaban investigando sobre biodesinfección de suelos. Dr G. ALMENDROS MARTÍN por sus colaboraciones científicas y sus certeras correcciones, Octavio CENEDILLA MARTÍN, MARGARITA SACRISTÁN, y María Luisa de ANDRÉS del Servicio de Análisis, CCMA, CSIC, por su ayuda en la realización de los análisis químicos y físicos de las muestras de suelo. En general a todas las personas del Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC de Madrid, y de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid que directa o indirectamente han colaborado, especialmente a resolver los problemas que han surgido a lo largo de la realización del trabajo, y en especial al Dr E. DE LA PEÑA TORRES, Dña C. CUADRA GONZÁLEZ-ADALID, D. M.S. FERNÁNDEZ CASADO, D. F. TORRES MARTÍN y F. DE LA PEÑA GARCÍA por su ayuda durante la realización del trabajo.

Al grupo de investigación del Dr A. LACASA PLASENCIA, Dpto Protección Vegetal y Biotecnología de IMIDA de la Región de Murcia, por poder realizar con su equipo ensayos en la Finca Experimental Torre Blanca en Torre Pacheco, en especial a C. ROS IBÁÑEZ, P. FERNÁNDEZ MOLINA, C.M. LACASA MARTÍNEZ, C. MARTÍNEZ, V. MARTÍNEZ, M.M. GUERRERO. A los Drs J. TELLO MARQUINA, C. IGLESIAS GONZÁLEZ, C. JORDÁ, J. LÓPEZ-CEPERO, J. LÓPEZ ROBLES, R. RODRÍGUEZ-KÁBANA, M. SALVO SALANOVA y F. MARTÍNEZ

por su ayuda y colaboración incondicional. No debemos olvidarnos del Dr J. SINOBAS ALONSO, al que tristemente hoy no podemos dar las gracias y entregar este trabajo.

No sólo los trabajos se han realizado en el ámbito académico o científico, sino que se ha tratado de hacer investigación participativa con el sector, para que nos aportaran su experiencia. Por ello no debemos olvidarnos de las personas con las que hemos trabajado en el campo, como son J.M. TORRES NIETO, por poner a nuestra disposición un invernadero de su finca y su disponibilidad en todo momento, y a sus padres J. TORRES y C. NIETO por su amabilidad, P. GÓMEZ SORIANO y P. GARCÍA, Bodegas San Isidro de Jumilla (Murcia), C. ALCOLEA y G. ALCOLEA, agricultores de Socuéllamos (Ciudad Real), J. BALLESTER, J.M. HERRERO, J.L. BELTRÁN y E. MARTÍNEZ de la cooperativa El Perelló (Valencia), P. MARTÍN, D. J. GUZMÁN y D. F. APONTE de Azucarera Ebro, D. J. SOLÉ de Vinumar (Villarrobledo, Albacete), J.A. LÓPEZ de Altosa y Á. LÓPEZ de Sociedad Cooperativa Sertyman ambos en Tomelloso (Ciudad Real).

Agradecemos el soporte y la financiación de este trabajo a la Encomienda de Gestión financiada con el Ministerio de Medio Ambiente “Reducción del impacto ambiental de subproductos agroindustriales mediante su empleo como biodesinfectantes para la sustitución de agroquímicos” (Ref. OTT2007X1317), a Azucarera Ebro por la financiación del proyecto “Fitorremediación de suelos cultivados mediante la aplicación de productos obtenidos de melazas de remolacha” realizado en la Universidad Politécnica de Madrid, al Ministerio de Ciencia y Tecnología que financió el proyecto CICYT: “Implicaciones medioambientales de los procesos inducidos por la biofumigación y su relación con la diversidad estructural y funcional de suelos” (Ref. CTM2006-07309) y al INIA ref. OT03-006-67 “Optimización y desarrollo de nuevas alternativas al bromuro de metilo: biofumigación”.

REFERENCIAS

- Abad P, Favery B, Rosso MN, Castagnone-Sereno P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Mol. Plant Pathol.* 4, 217-224.
- Abarca S. 2006. Alternativas al bromuro de metilo en Costa Rica (Alternatives to Methyl Bromide in Costa Rica). *XXXVIII ONTA Meeting*, 26-30 jun., San José, Costa Rica, 59 p.
- Abbasi PA, Conn KL, Lazarovits G. 2004. Suppression of *Rhizoctonia* and *Pythium* damping-off of radish and cucumber seedlings by addition of fish emulsion to peat mix or soil. *Can. J. Plant Pathol.* 26, 177-187.
- Abbasi PA, Lazarovits G, Jabaji-Hare S. 2009. Detection of high concentrations of organic acids in fish emulsion and their role in pathogen or disease suppression. *Phytopathology* 99, 274-281.
- Abdul-Baki A, Bryan H, Klassen W, Carrera L, Li YC, Wang Q. 2004. Low production cost alternative systems are the avenue for future sustainability of vegetable growers in the U.S. *Acta Hort.* 638, 197-200.
- Agrawal AA, Tuzun S, Bent E. (Eds) 1999. **Induced Plant Defenses**. APS Press, St. Paul, Minnesota, 390 pp.
- Aguirre I, Carmona I, López-Martínez N, Cuaresma I, González-Zamora JE, Avilla C, López-Medina I. 2004. Influencia de la biofumigación en la productividad y precocidad del cultivo ecológico de fresón. *VI Congr. SEAE*, 27 sept.-2 oct., Almería, 303-312.
- Akhtar M. 2000. Effect of organic and urea amendments in soil on nematode communities and plant growth. *Soil Biol. Biochem.* 32, 573-575.
- Alabouvette CL. 2000. Biological control of plant diseases and the environment. *Phytoparasitica* 28, 189-190.
- Alfaro A. 1971. Presencia en España del virus del "fanleaf" de la vid. *Anales I.N.I.A. Servicio de Protección de los vegetal* 1, 71-80.
- Alfaro A, Goheen AC. 1974. Transmission of strains of grapevine fanleaf virus by *Xiphinema index*. *Plant Dis. Rep.* 58, 549-552.
- Alphey TJW, Taylor CE (Eds). 1986. **European Atlas of the Longidoridae & Trichodoridae**. Scottish Crop Research Institute, Dundee, 123 pp.
- Altieri MA. 1997. **Agroecología. Bases Científicas para una Agricultura Sustentable**. CLADES, La Habana, Cuba, 249 pp.
- Angus JF, Gardner PA, Kirkegaard JA, Desmarchelier JM. 1994. Biofumigation: Isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant and Soil* 162, 107-112.
- Antoniou M. 1989. Arrested development in plant parasitic nematodes. *Helminthology* 58, 1-19.

- Arbel A, Siti M, Katan J, Gamliel A. 2003. Innovative plastic films enhance solarization efficacy and pest control. *Annual Int. Research Conf. on MB Alternatives and Emissions Reductions*, 3-6 Nov., San Diego, California, EE UU, 4.1-4.2.
- Arias M. 1975. Nuevas aportaciones al conocimiento del género *Xiphinema* (Nematoda) y su distribución en los suelos españoles. *Anales de Edafología y Agrobiología* 34, 183-198.
- Arias M. 1979. Distribution of Longidoridae. In: TJW Alphey (Ed.). **Atlas of Plant Parasitic Nematodes of Spain**. Scottish Crop Research Institute, Dundee, UK, 46-66.
- Arias M. 1996. Nematodos asociados al cultivo de la vid. Transmisión de virosis por nematodos. In: C Prendes, CD Lorenzo, R Cabrera Pérez (Eds). **Seminario de Fitopatología (conferencias)**. Univ. La Laguna, Tenerife, 7-39.
- Arias M, Andrés MF, Bello A. 1991. *Xiphinema rivesi* (Nematoda: Longidoridae) en España. In: SEF (Ed.). **Estudios de Fitopatología**. Consejería de Agricultura, Badajoz, 154-159.
- Arias M, Fresno J, López-Pérez JA, Escuer M, Arcos SC, Bello A. 1997. **Nematodos, Virosis y Manejo del Viñedo en Castilla-La Mancha**. CSIC-JCCLM, Madrid, 117 pp.
- Arias M, Navacerrada G. 1973. Geographical distribution of *Xiphinema* Cobb in Spanish vineyards. *Nematol. medit.* 1, 28-35.
- Arias M, Navacerrada G. 1976. Nematodes on the Spanish vine crops. *Agr. Consp. Scien.* 39, 587-591.
- Arias M, Navas A, Bello A. 1985. Nematodos ectoparásitos y transmisores de virus de la familia Longidoridae. Su distribución en España continental. *Bol. Ser. Plagas* 11, 275-337.
- Arias M, Navas A, Bello A. 1986. Analysis of the geographical distribution of *Xiphinema diversicaudatum* and *Xiphinema pachtaicum* in relation to environmental factors in Spain. *Nematol. medit.* 14, 7-13.
- Atherton JG, Rudich J. 1986. The biology and control of some important pests. Nematodes, roundworms. In: JG Atherton, J Rudich (Eds). **The Tomato Crop. A Scientific Basis For Improvement**. Universisty Press, Cambridge, 404-409.
- Avilés Guerrero M, Rodríguez Jurado D, Castillo Jurado S, Castillo Fernández ML, Borrero Vega C, Bejarano Alcázar J. 2008. Mecanismos involucrados en la supresión de *Verticillium dahliae* en el suelo mediante la aplicación de enmiendas de crucíferas. *XIV Congreso SEF*, 15-19 sept., Lugo, 358 p.
- Baerman G. 1917. Eine einfache methode zur auffindung von *Ankylostomum* (Nematoden) larven in Erdproben. [A simple method for isolation of *Ancylostoma* (nematode) larvae in soil samples.]. *Tijdschr Diergeneeskd* 57, 131-137.
- Bailey KL, Lazarovits G. 2003. Suppressing soilborne diseases with residue management and organic amendments. In: AV Sturz, BR Christie (Eds). **Soil Agroecosystems: Impacts Of Management On Soil Health and Crop Diseases**. *Soil Tillage Res.* 72, 169-180.
- Barea JM, Azcón R, Azcón-Aguilar C. 2004. Mycorrhizal fungi and plant growth Promoting rhizobacteria. In: A Varma, L Abbott, D Werner, R Hampp (Eds). **Plant Surface Microbiology**. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 352-371.

- Barres MT, Bello A, Jordá C, Tello JC. 2006. **La Eliminación del Bromuro de Metilo en la Protección de Cultivos como Modelo Mundial para la Conservación del Medio Ambiente**. MAPA, Madrid, 515 pp.
- Becker J, Hutchinson C, Ohr H, McGiffen M, Sims J. 1998a. Efficacy of MB and methyl iodide against lesion nematodes harbored in rose roots. *Annual Internacional Research Conference on MB Alternatives and Emissions Reductions*, 7-9 Dec., Orlando, Florida, EE UU, 111.1-111.2.
- Becker J, Ohr H, Grech N, McGiffen M, Sims J. 1998b. Evaluations of methyl iodide as a soil fumigant in container and small field plot studies. *Pestic. Sci.* 52, 58-62.
- Beek van der JG, Folkertsma RT, Poleij LM, van Koert PHG, Bakker J. 1997. Molecular evidence that *Meloidogyne hapla*, *M. chitwoodi* and *M. fallax* are distinct biological entities. *Fundam. Appl. Nematol.* 20, 513-520.
- Bejarano-Alcázar J. 2004. Efecto de la biofumigación con pasto del Sudán y colza sobre el control de *Verticillium dahliae* en viveros de olivo. *XII Congreso SEF*, 26 sept.-1 oct., Lloret de Mar, Girona, 283 p.
- Bell A, Boye J, Muck O. 1998. **Methyl Bromide Substitution in Agriculture**. GTZ, Eschborn, 159 pp.
- Bello A. 1983. Nematodos patógenos de los árboles frutales. *Boletín del Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica* 9, 133-165.
- Bello A. 1985. Los nematodos en España y su efecto en la remolacha azucarera. *II Jornadas Internacionales de Estudios Remolacheros. Control de nematodos*. Valladolid 27-28 noviembre, 16-63.
- Bello A. 1998. Biofumigation and integrated pest management. In: 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. 2008. La crisis del cultivo del tomate en Canarias. Alternativa desde la Agroecología. *Agropalca* 3, 16 p.
- Bello A, Arias M, López-Pérez JA, García-Álvarez A, Fresno J, Escuer M, Arcos SC, Lacasa A, Sanz R, Gómez P, Díez-Rojo MA, Piedra Buena A, Goitia C, Horra JL de la, Martínez C. 2004a. Biofumigation, fallow, and nematode management in vineyard replant. *Nematropica* 34, 56-64.
- Bello A, Cenis JL, Fresno J. 1989. Nematodos formadores de nódulos (*Meloidogyne* spp.) y su relación con el manejo de suelos en ambientes de clima Mediterráneo continental. *V Congreso SEF*. Junta de Extremadura, Badajoz 4, 37 p.
- Bello A, Díez-Rojo MA. 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, Díez-Rojo MA, López Pérez JA, Castro I, Gallego A. 2010a. **Biodesinfección de Suelos**. Sociedad Española de Agricultura Ecológica (SEAE), Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, Madrid. www.vimeo.com/tekieroverde

- Bello A, Escuer M, Arias M. 1994a. Nematological problems, production systems and Mediterranean environments. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 24, 383-391.
- Bello A, Escuer M, Pastrana MA. 1994b. Nematodos fitoparásitos y su control en ambientes mediterráneos. *In: G Llácer, MM López, A Trapero, A Bello (Eds). Patología Vegetal*. SEF, Valencia, 1039-1069.
- Bello A, Escuer M, Sanz R, López JA, Guirao P. 1997a. Biofumigación, nematodos y bromuro de metilo en el cultivo del pimiento. *In: A López, JA 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, Jordá C, Tello JC. 2010b. **Agroecología y Producción Ecológica**. CSIC, Catarata, 77 pp.
- Bello A, López-Pérez JA, Arias M, Lacasa A, Ros C, Herrero M, Fernández P. 2001. Biofumigation and grafting in pepper as alternative to MB. *Annual International Research Conference on MB Alternatives and Emissions Reductions*, 5-9 Nov., San Diego, California, EE UU, 31.1-31.2.
- Bello A, López-Pérez JA, Díaz-Viruliche L, Sanz R, Arias M. 1999. Bio-fumigation and local resources as methyl bromide alternatives. *3rd International Workshop "Alternatives to methyl bromide for the Southern European Countries"*, 7-10 Dec., Heraclion, Creta, Grecia, 17 p.
- Bello A, López-Pérez JA, Díez-Rojo MA, López-Cepero J, García-Álvarez A. 2008a. Principios ecológicos en la gestión de los agrosistemas. *Arbor, Ciencia, Pensamiento y Cultura* 729, 19-29.
- Bello A, López-Pérez JA, Díez-Rojo MA, Robertson L, Escuer M, Piedra Buena A, Martínez C. 2004b. Caracterización de la virulencia de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* en hortalizas. *VI Congreso SEAE*, 27 sept.-2 oct., Almería, 335-347.
- Bello A, López-Pérez JA, García-Álvarez A. 2002. Biofumigation as an alternative to methyl bromide. *In: T Batchelor, JM Bolivar (Eds). International Conference on Alternatives to Methyl Bromide*, 5-8 Mar., Sevilla, Spain. Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg, 221-225.
- Bello A, López-Pérez JA, García Álvarez A (Eds). 2003. **Biofumigación en Agricultura Extensiva de Regadío. Producción Integrada de Hortícolas**. CSIC-Caja Rural de Alicante, Mundi-Prensa, Madrid, 670 pp.
- Bello A, López-Pérez JA, Sanz R, Escuer M, Herrero J. 2000. Biofumigation and organic amendments. **Regional Workshop on Methyl Bromide Alternatives for North Africa and Southern European Countries**, United Nations Environment Programme (UNEP), Francia, 113-141.
- Bello A, Navas A, Belart C, Alvira MP. 1985. **Nematodos de los Cítricos**. Excmo Ayto De Castellón de la Plana, 222 pp.

- Bello A, Pastrana MA, González JA, Escuer M, Orts C. 1997b. Control de nematodos sin bromuro de metilo y producción integrada en España. *In*: A Bello, JA González, J Pérez Parra, J Tello (Coords). **Alternativas al Bromuro de Metilo en Agricultura. Seminario Internacional**, 29-30 abril 1996, Almería, Consejería de Agricultura y Pesca, 155-171.
- Bello A, Rey JM, Arias M, González JA. 1996. Valores agroambientales de los viñedos de La Mancha y protección de cultivos. **La Vid y el Vino en Castilla-La Mancha**. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, 155 pp.
- Bello A, Robertson L, Díez-Rojo MA, Arias M. 2005. A re-evaluation of the geographical distribution of quarantine nematodes reported in Spain. *Nematol. medit.* 33, 209-216.
- Bello A, Robertson L, López-Robles J, González-López MR, Díez-Rojo MA, López-Pérez JA, Abelleira A, López-Cepero J, Arcos SC, García-Dorado V, Jiménez-Díaz E, Serrano F, Martínez Martínez C, Carreño JM, López-Borrego MM, Perera S, Rios D, Navas A. 2008b. Cultivo ecológico de la papa y nematodos de cuarentena: *Meloidogyne chitwoodi* & *M. fallax*. *Seminario Internacional sobre la papa, un cultivo y una cultura con valores agroecológicos*, 24-25 nov., Candelaria, Tenerife, 25 p.
- Bello A, Tello J. 1998. El bromuro de metilo se suprime como fumigante del suelo. *Phytoma España* 101, 10-21.
- Berbegal M, García-Jiménez J, Armengol J. 2006. Evaluación de la incorporación de residuo de coliflor combinado con solarización para el control de la Verticilosis de la alcachofa en la Comunidad Valenciana. *Phytoma España*, 170, 30-36.
- Blok WJ, Lamers JG, Termorshuizen AJ, Bollen GJ. 2000. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90, 253-259.
- Boix A, Santos M, Diáñez F, Cara M de, Martínez RE, Gámez I, Blanco R, Tello J. 2004. Efecto de la biofumigación sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis cucumerinum*. VI congreso SEAE, 27 Sept.-2 Oct., Almería, 361-370.
- Bolívar JM. 1999. Current status of methyl bromide alternatives in Spain. *3rd International Workshop Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. 7-10 Dec., Creta (Greece), 139-140.
- Borja MJ, Ponz F. 1992. An appraisal of different methods for the detection of the walnut strain of cherry leafroll virus. *J. Virol. Methods* 36, 73-83.
- Bouquet A, Danglot Y, Bongiovanni M, Castagnone-Sereno P, Torregrosa L. 2000. Breeding rootstocks resistant to grape grape fanleaf virus spread, using *Vitis* × *Muscadinia* hybridation. *Acta Hort.* 528, 517-526.
- Bovey R. 1980. Control of virus and virus-like diseases of grapevine: Sanitary selection and certification, heat therapy, soil fumigation and performance of virus-tested material. *Proc. 7th Intern. Conf. Viruses and Vectors of Grapevines*, Niagara Falls, 299-309.
- Bovey R, Gartel W, Hewitt WB, Martelli GL, Vuittenez A. 1980. **Maladies à Virus et Affections Similaires de la Vigne**. Payot Lausanne, Suiza, 183 pp.

- Bravo Giraldo 2003. Aprovechamiento de residuos agroindustriales para la producción de bioabonos y especies menores - Grupo de Agroquímica. Proyecto UNICAUCA-PRONATTA <http://purace.ucauca.edu.co>
- Bridge J, Page SLJ. 1980. Estimation of root-knot nematodes infestation levels using a rating chart. *Trop. Pest Manage.* 26, 296-298.
- Broadbent P, Baker KF, Franks N, Holland J. 1977. Effect of *Bacillus* spp. on increased growth of seedling in steamed and in non treated soil. *Phytopathology* 67, 1027-1034.
- Brown DJF, Dalmasso A, Trudgill DL. 1993. Nematode pests of fruits and vines. In: K Evans, DL Trudgill, JM Webster (Eds). **Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture**. Wallingford, UK, CABI, 427-462.
- Brown DJF, Weischer B. 1998. Specificity, exclusivity and complementarity in the transmission of plant viruses by plant parasitic nematodes: An annotated terminology. *Fundam. Appl. Nematol.* 21, 1-11.
- Brundtland GH, Khalid M. 1987. *Our Common Future*. Report of World Commission on Environmental and Development presented to the chairman of Inter-govermental Inter Sessional Preparatory Committee, UNEP Governing Council. Oxford University Press Oxford, 383 pp.
- Bunce RGH, Ryskowski L, Paoletti MG (Eds). 1993. **Landscape Ecology and Agroecosystems**. Lewis Publishers, Boca-Ratón, Florida, 241 pp.
- Bungay DP. 1999. Steam sterilisation as alternative to methyl bromide. Methyl Bromide and Soilborne Diseases. *Tenth annual interdisciplinary meeting of the Soil-borne plant Diseases interest group*, 8-9 Sept., Stellenbosch, South Africa.
- Cadman CH, Dias HF, Harrison BD. 1960. Sap-transmissible viruses associated with diseases of grapevines in Europe and North America. *Nature* 187, 577-579.
- Cañizo J, Rodríguez-Sardiña J. 1926. Sobre los nematodos parásitos de la remolacha. *Boletín de Patología Vegetal y Entomología Agrícola* 1, 48-52.
- Carneiro RMDG, Almeida MRA, Carneiro RG. 1996. Enzyme phenotypes of Brazilian populations of *Meloidogyne* spp. *Fundam. Appl. Nematol.* 19, 555-560.
- Carneiro RMDG, Carneiro RG, Das Neves DI, Almeida MA. 2003. New race of *Meloidogyne javanica* on *Arachis pintoni* in the state of Paraná. *Nematol. Bras.* 27, 219-221.
- Carson R. 1962. **The Silent Spring**. Houghton Mifflin, New York, 400 pp.
- Castagnone-Sereno P. 2002a. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes?. *Euphytica* 124, 193-199.
- Castagnone-Sereno P. 2002b. Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp, and their ability to overcome plant resistance genes. *Nematology* 4, 605-608.

- Castagnone-Sereno P, Abad P, Bakker J, Williamson VM, Gommers FJ, Dalmasso A. 1997. Genetic and molecular strategies for the cloning of (A) virulence genes in sedentary plant-parasitic nematodes. *In*: C Fenoll, FMW Grundler, SA Ohl (Eds). **Cellular and Molecular Aspects of Plant-Parasitic Nematode Interactions**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 167-175.
- Castagnone-Sereno P, Rosso MN, Bongiovanni M, Dalmasso A. 1995. Electrophoretic analysis of near-isogenic avirulent and virulent lineages of the parthenogenetic root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Physiol. Mol. Plant P.* 47, 293-302.
- Castillo A, Marbán-Mendoza N. 1996. Evaluación en laboratorio de nematodos Steinermatidos y Heterorhabditidos para el control biológico de la broca del café, *Hypothenemus hampei* Ferr. *Nematropica* 26, 101-109.
- Cebolla V. 2002a. Alternatives to methyl bromide in vegetable and strawberry crops in Spain. *In*: T Batchelor, JM Bolivar (Eds). *Proceedings of the International Conference on Alternatives to Methyl Bromide*. 5-8 Mar., Sevilla, Spain. Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg, 61-65.
- Cebolla V. 2002b. Four years of research on improved soil solarisation and other alternatives to methyl bromide on strawberry crops. *In*: T Batchelor, JM Bolivar (Eds). **International Conference on Alternatives to Methyl Bromide**. 5-8 Mar., Sevilla, España, 359-362.
- Cenis JL. 1985. Control del nematodo *Meloidogyne javanica* (Treub) Chit. mediante calor solar (solarización). *Anales INIA. Servicio Agrícola* 28, 121-130.
- Cenis JL. 1987. Occurrence of root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. in the South-east of Spain. *7th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, Granada, 120 p.
- Cenis JL. 1993. Identification of four major *Meloidogyne* spp. by random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR). *Phytopathology* 83, 76-80.
- Cenis JL, Opperman CH, Triantaphyllou AC. 1992. Cytogenetic, enzymatic and restriction fragment length polymorphism variation of *Meloidogyne* spp. from Spain. *Phytopathology* 82, 527-531.
- Chacón MR, Rodríguez E, Parkhouse MRE, Burrows PR, Garate T. 1994. The differentiation of parasitic nematodes using random amplified polymorphic DNA. *J. Nematol.* 68, 109-113.
- Chanyasak V, Katayama A, Hirai MF, Mori S, Kubota H. 1983. Effects of compost maturity on growth of Komatsuna (*Brassica rapa* var. *pervidis*) in Neubauer's pot. II. Growth inhibitory factors and assessment of degree of maturity by org.-C/org.-N ratio of water extract. *Soil Sci. Plant Nutr.* 29, 251-259.
- Chaverri F, Gadea A. 2001. Report to UNDP on demonstration project results. **Alternatives to Methyl Bromide for Soil Fumigation on Costa Rican Melons and Cut Flowers**. COGO, San José.

- Chellemi DO, McSorley RM, Rich JR, Olson SM. 1997a. Field validation of soil solarisation for fall production of tomato. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 110, 330-332.
- Chellemi DO, Olso S, Mitchell DJ, Secker I, McSorley RM. 1997b. Adaptation of soil solarization to the Integrated Management of soil-borne pests of tomato under humid conditions. *Phytopathology* 87, 250–258.
- Chet I. 1987. **Innovative Approaches to Plant Disease Control**. John Wiley and Sons, New York, 372 pp.
- Chet I, Baker R. 1980. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* 70, 994–998.
- Choleva B. 1975. Nematodes of the family Longidoridae in Bulgaria. In: F Lamberti, CE Taylor, JW Seinhorst (Eds). **Nematode Vectors of Plant Viruses**. Plenum Press, 355-356.
- Ciancio C, Bonsignore R, Vovlas N, Lamberti F. 1994. Host range and spore morphometrics of *Pasteuria penetrans* group parasites of nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* 63, 260-267.
- Clark MF. 1981. Immunosorbent Assays in plant pathology. *Ann. Rev. Phytopatol.* 19, 83-106.
- Cohn E. 1977. *Xiphinema italiae* C.I.H. Description of Plant Parasitic nematodes, Set 7 n° 95.
- Cohn E, Mordechani M. 1969. Investigations on the life cycles and host preference of some species of *Xiphinema* and *Longidorus* under controlled conditions. *Nematologica* 15, 295-302.
- Cohn E, Mordechani M. 1970. The influence of some environmental and cultural conditions on rearing populations of *Xiphinema* and *Longidorus*. *Nematologica* 16, 85-93.
- Cohn E, Tanne E, Nitzany F. 1970. *Xiphinema italiae*, a new vector of grapevine fanleaf virus. *Phytopathology* 58, 1316-1320.
- Coiduras P, Martínez A, Díaz M, Fernández-Rodríguez EJ, Camacho-Ferre F, Porcuna JL. 2004. Efecto sobre la producción de tomate en cultivo ecológico en invernadero de la aplicación al suelo de distintas dosis de restos orgánicos para biofumigación o biosolarización. *VI Congreso SEAE*, 27 Sept.-2 Oct., Almería, 1083-1092.
- Coiro MI, Agostinelli A. 1991. The development of juvenile stages of *Xiphinema index* (Nematoda: Dorylaimida) on *Vitis vinifera*. *Rev. nématol.* 14, 181-182.
- Coiro MI, Brown DJF, Lamberti F. 1990a. Reproduction of *Xiphinema index* (Nematoda: Dorylaimida) on five plant species. *Nematologica* 36, 474-478.
- Coiro MI, Taylor CE, Lamberti F. 1990b. Reproduction of two populations of *Xiphinema index* in relation to host and temperature. *Nematol. mediterr.* 18, 117-118.
- Collins HP, PE Rasmusen, Douglas Jr CL. 1992. Crop rotation and residue management effects on soil carbon and microbial dynamics. *Soil Sci. Soc Am. J.* 56, 783-788.
- Conn KL, Lazarovits G. 1999. Impact of animal manures on *Verticillium* wilt, potato scab, and soil microbial populations. *Can. J. Plant Pathol.* 21, 81-92.

- Conn KL, Lazarovits G. 2000. Soil factors influencing the efficacy of liquid swine manure added to soil to kill *Verticillium dahliae*. *Can. J. Plant Pathol.* 22, 400-406.
- Conn KL, Tenuta M, Lazarovits G. 2005. Liquid swine manure can kill *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil by volatile fatty acid, nitrous acid, and ammonia toxicity. *Phytopathology* 95, 28-35.
- Conn KL, Topp E, Lazarovits G. 2007. Factors influencing the concentration of volatile fatty acids, ammonia, and other nutrients in stored liquid pig manure. *J. Environ. Qual.* 36, 440-447.
- Cook RJ, Baker KF. 1983. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. St. Paul American Phytopathology Society, 539 pp.
- Cooke DA. 1991. The effect of beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*, on the yield of sugar beet in organic soils. *Ann. Appl. Biol.* 118, 153-160.
- Cooke DA. 1993. Nematodes parasites of sugarbeet. In: K Evans, DL Trudgill, JM Webster (Eds). **Plant Parasitic Nematodes in Temperature Agriculture**. CAB International, 133-170.
- Cooke DA, Thomason IJ. 1979. The relationship between population density of *Heterodera schachtii*, soil temperature and sugar beet yields. *J. Nematol.* 11, 124-128.
- Coolen WA. 1979. Methods for extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. In: F Lamberti, CE Taylor (Eds). **Root-knot Nematodes (Meloidogyne species). Systematics, Biology and Control**. *Internat. Conf. on Meloidogyne spp.*, 17-28 oct. 1977, Bari, Italy, 317-329.
- Cordeau J. 1998. **Création de la Vigne et Porte-Graffes. Elimination des Maladies à Virus**. Edit. Féret, Merignac cedex, France, 182 pp.
- Cubero JI. 1998. La mejora genética vegetal en la agricultura sostenible. In: RM Jiménez-Díaz, J Lamo de Espinosa (Eds). **Agricultura Sostenible**. Edit. Mundi-Prensa, Madrid, 297-326.
- D'Addabbo T. 1995. The nematicidal effect of organic amendments: a review of literature, 1982-1994. *Nematol. medit.* 23, 299-305.
- Dalmaso A. 1970. Influence directe de quelques facteurs écologiques sur l'activité biologique et la distribution des espèces françaises de la famille des Longidoridae (Nematoda-Dorylaimida). *Ann. Zool. Eco. Anim.* 2, 163-200.
- Daniel WW. 1993. **Bioestadística**. Edit. Noruega Limusa, México, D.F, 667 pp.
- Davies KG, Danks C. 1993. Carbohydrate/protein interactions between the cuticle of infective juveniles of *Meloidogyne incognita* and spores of the obligate hyperparasite *Pasteuria penetrans*. *Nematologica* 39, 53-64.
- Davis JR, Huisman OC, Everson DO, Schneider A.T. 2001. *Verticillium* wilt of potato: a model of key factors related to disease severity and tuber yield in southeastern Idaho. *Am. J. Potato Res.* 78, 291-300.

- Demangeat G, Voisin R., Minot JC, Bosselut N, Fuchs M, Esmenjaud D. 1995. Survival of *Xiphinema index* in vineyard soil and retention of *Grapevine fanleaf virus* over extended time in the absence of host plants. *Phytopathology* 95, 1151-1156.
- DeVleeschauwer D, Verdonck O, Van Assche P. 1981. Phytotoxicity of refuse compost. *Biocycle* 22, 44-46.
- Diáñez F, Criado J, Santos Hernández M, de Cara M, Martínez R, Segura I, García Gámez A, Chebaani M, Bello A, Avilés M, Tello JC. 2003. Control of *Phytophthora capsici* by biofumigation. IOBC WPRS Bulletin. *Colloque International Lutte Intégrée Cultures Protégées Climat Méditerranéen*. Agadir, Marruecos, 150-151.
- Diáñez F, Santos Hernández M, Blanco MR, Chebaani M, Castillo P, Yelamos JA, Gea FJ, Trillas MI, Avilés M, Sinobas J, Tello JC. 2002. Supresividad de la microbiota bacteriana presente en el compost de orujo de vid frente a hongos fitopatógenos. *V Congreso SEAE y I Congreso Iberoamericano de Agroecología*, 16-21 Sept., Gijón, 983-991.
- Díaz Hernández S, Gallo L, Domínguez-Correa P, Rodríguez-Pérez A. 2004. Efecto a largo plazo de la solarización sobre la producción, incidencia de raíces corchosas y actividad biológica del suelo en el cultivo del tomate. *XII congreso SEF*, 26 sept.-1 Oct., Lloret de Mar, Girona, 289 p.
- Díaz Hernández S, Rodríguez Pérez A, Domínguez Correa P, Alcoverro T, Gallo L. 2002. Solarización: un tratamiento físico de desinfección de suelo que incrementa la producción de cultivo de tomate. *V Congreso de la SEAE y I Congreso Iberoamericano de Agroecología*, 16-21 Sept., Gijón, 1027.
- Díaz Viruliche LP. 2000. **Interés Fitotécnico de la Biofumigación en los Suelos Cultivados**. Tesis Doctoral, ETSI Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, España, 600 pp.
- Dickinson MJ, Jones DA, Jones JDG. 1993. Close linkage between the *Cf-2/Cf-5* and *Mi* resistance loci in tomato. *Molecular Plant Microbe Interactions* 6, 341-347.
- Díez-Rojo MA. 2006. **Fundamentos Fitotécnicos para la Aplicación de Subproductos Agrarios en la Mejora de Suelos Cultivados**. Trabajo Experimental Fin de Carrera. E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, 251 pp.
- Díez-Rojo MA. 2010. **Bases Agronómicas para la Utilización de Restos Agrarios en Biodesinfección de Suelos**. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid, 409 pp.
- Díez-Rojo MA, Bello A, Escuer M, López-Pérez JA, García Álvarez A. 2006. **Nematodos Fitoparásitos Encontrados en Castilla y León. Alternativas no Químicas de Control**. MAPA, Madrid, 254 pp.
- Díez-Rojo MA, Castro Lizazo I, López-Pérez J.A, González-López M.R, Martínez Martínez C, Bello Pérez A. 2009. Biodesinfección de suelos como alternativa a los fumigantes químicos. *Agropalca* 5, 24-25.

- Díez-Rojo MA, López-Pérez JA, Arcos SC, González López MR, Robertson L, Guerrero MM, Ros C, Lacasa A, Torres JM, Cara M de, Tello JC, Bello A. 2008a. Soil biodesinfection as an alternative to soil fumigants. *Proceedings of Fifth International Congress of Nematology*, 13-18 Jul., Brisbane, Australia, 133 p.
- Díez-Rojo MA, López-Pérez JA, González López R, Arcos SC, García Dorado V, Iglesias González C, Bello A. 2008b. The use of by products from the wine industry in the control of plant parasitic nematodes. *Third International Biofumigation Symposium*, 21-25 Jul., Canberra, Australia, 40 p.
- Díez-Rojo MA, Torres JM, López-Pérez JA, Robertson L, Arcos SC, González López R, García Dorado V, de Cara M, Tello JC, Bello A. 2008c. Biofumigation and management of soil-borne organisms of crops on sandy soils in Almería (Spain). *Third International Biofumigation Symposium*, 21-25 Jul., Canberra, Australia, 38 p.
- Dimov I. 1997. Long term investigations of crops rotations involving sugarbeet. *Rasteniev"dni Nauki* 34, 65-68.
- Domínguez García-Tejero F. 1951. Distribución en España de las plagas de la remolacha. *Bol. Patol. Veg. Ent. Agric.* 18, 197-198.
- Domínguez García-Tejero F. 1957. **Plagas y Enfermedades de las Plantas Cultivadas**. Dossat S.A. Madrid, 944 pp.
- Dropkin VH. 1988. The concept of race in phytonematology. *Annual Review of Phytopathology* 26, 145-161.
- Duda A, Liste HJ. 1991. Crop rotations as a measure for limiting damage due to *Heterodera schachtii* on sugarbeet. *Bodenkultur* 42, 253-260.
- Dungan RS, Yates SR. 2003. Degradation of fumigant pesticides. 1,3-dichloropropene, methyl isothiocyanate and methyl bromide. *Vadose Zone Jour.* 2, 279-286.
- Ebsary BA, Potter JW, Allen WA. 1984. Redescription and distribution of *Xiphinema rivesi* Dalmaso, 1969, and *Xiphinema americanum* Cobb, 1913 in Canada with description of *Xiphinema occiduum* n.sp. *Can. J. Zool.* 62, 1696-1702.
- Eddaoudi M, Ammati M, Rammah A. 1997. Identification of the resistance breaking isolates of *Meloidogyne* on tomatoes on Morocco and their effects on new sources of resistance. *Fundam. Appl. Nematol.* 20, 285-289.
- Edwards JH, Someshwar AV. 2000. Chemical, physical, and biological characteristics of agricultural and forest by-products for land applications. In: JM Bartels, WA Dick (Eds) **Land Application of Agricultural, Industrial, and Municipal By-products**. Soil Society of America Series Book 6, 1-62.
- Eguchi T, Moriyama M, Yokoyama T. 2002. Control of loss from root lesion nematodes (*Pratylenchus vulnus*) and effect on soil microorganisms by hot water injection on strawberry garden. *Kyushu Agricultural Research* 64, 91 p.

- Eisenback JD. 1993. Morphological comparisons of females, males and second-stage juveniles of cytological races A and B of *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949. *Fundam. Appl. Nematol.* 16, 259-271.
- Elberson LR, McCaffrey JP, Tripepi RR. 1997. Use of rapeseed meal to control black vine weevil larvae infesting potted rhododendron. *Journal of Environmental Horticulture* 15, 173- 176.
- El-Tarabily KA, Nassar AH, Hardy GESJ, Sivasithamparam K. 2003. Fish emulsion as a food base for rhizobacteria promoting growth of radish (*Raphanus sativus* L. var. *sativus*) in a sandy soil. *Plant Soil* 252, 397-411.
- Engelbrecht DJ. 1980. Application of the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay procedure to the detection of grapevine fanleaf virus. *South Afr. J. Enol. Vitic.* 1, 103-106.
- 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. II Jornadas sobre Alternativas Viables al BM en Pimiento de Invernadero.** Serie: Jornadas y Congresos, 16, Región de Murcia, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, 27-57.
- Fargette M. 1987. Présence de race B du nématode phytoparasite *Meloidogyne incognita* en Côte d'Ivoire et leur caractérisation par l'électrophorèse des estérases. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, III (Science de la Vie)* 306, 437-440.
- Fargette M, Phillips MS, Blok VC, Waugh R, Trudgill DL. 1996. An RFLP study of relationships between species, populations and resistance-breaking lines of tropical species of *Meloidogyne*. *Fundam. Appl. Nematol.* 19, 193-200.
- Favery B, Lecomte P, Gil N, Bechtold N, Bouchez D, Dalmaso D, Abad P. 1998. The endosymbiosis-induced genes *ENOD40* and *CCS52* are involved in endoparasitic-nematode interaction in *Medicago truncatula*. *Molecular Plant Microbe Interactions* 15, 1008-1013.
- Fernández P, Pascual JA, Lacasa A. 2008. Aspectos físicos, químicos y medioambientales de la biosolarización en invernaderos de pimiento. *VIII Congreso SEAE.* 17-20 Sept., Bullas, Murcia, 97p.
- Fisher JM, Raski DJ. 1967. Feeding of *Xiphinema index* and *X. diversicaudatum*. *Proc. Helm. Soc. Wash.* 34, 68-72.
- Flegg JJM. 1966. Once-yearly reproduction in *Xiphinema* and *Longidorus* species in Southeastern England. *Nematologica* 14, 197-210.
- Flegg JJM. 1967. Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting sieving technique. *Ann. Appl. Biol.* 60, 429-437.
- Flegg JJM. 1968. The occurrence of depth distribution of *Xiphinema* and *Longidorus* species in the South-eastern England. *Nematologica* 14, 189-196.
- Flores P, Hellín P, Lacasa A, Fernández P, Ruiz M, Marin C, Fenoll J. 2006. Estudio de la acumulación de metales pesados en suelo después de sucesivas desinfecciones con biofumigación + solarización. *VII Congreso SEAE,* 18-23 Sept., Zaragoza, 109.

- Forer LB, Hill NS, Powell CA. 1981. *Xiphinema rivesi* a new tomato ringspot virus vector. *Phytopathology* 78, 874.
- Forer LB, Stouffer. 1982. *Xiphinema* spp. associated with tomato ringspot virus infection of Pennsylvania fruit crops. *Plant Dis.* 66, 735-736.
- Fresno J, Arias M. 1993. Detection of grapevine fanleaf virus (GFLV) along the whole year and on its vector nematodo *Xiphinema index*. *11th Meeting ICVG*, Montreaux, Suiza, 148-150.
- Fresno J, Arias M, López-Pérez JA. 2001. Influencia de las técnicas de cultivo sobre las poblaciones de nematodos vectores de virus y la dispersión del GFLV en los viñedos de Castilla-La Mancha. *Bol. San. Veg. Plagas* 27, 419-428.
- Fritsch J. 2002. The current status of alternatives to MB in vegetable crops in France. In: T Batchelor, JM Bolivar (Eds). **Proceedings of International Conference on Alternatives to MB, "The remaining challenges"**. European Commission, Sevilla, 5-8 Mar. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 193-195.
- Fuller VL, Lilley CJ, Urwin PE. 2008. Nematode resistance. *New Phytologist* 180, 27-44.
- Gamliel A, Skutelsky Y, Peretz-Alon Y, Becker E. 2001. Soil solarisation using sprayable plastic polymers to control soilborne pathogens in field crops. *2001 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, 5-9 Nov., San Diego, California, EEUU, Paper 10.
- Gamliel A, Stapleton J. 1993. Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. *Phytopathology* 83, 899-905.
- 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. *Appl. Soil Ecol.* 27, 197-210.
- García Álvarez A, Bello A, Sanz R, Piedra A, Díez-Rojo MA. 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 Sept., Lisboa, Portugal, 171-175.
- García-Ruiz A. 2008. **Etiología, Epidemiología y Control no Químico de las Enfermedades Edáficas del Cultivo del Clavel en Invernaderos de la Costa Noroeste de Cádiz**. Tesis doctoral. Universidad de Almería, 321 pp.
- García-Ruiz A, García Bernal JP. 2009. La biodesinfección de suelos como alternativa en los cultivos de flor cortada de Andalucía. *Agropalca* 6, 22 p.
- García-Ruiz A, Tello Marquina JC, Avilés-Guerrero M, Ordovás Ascaso J. 2009. **Fusariosis del Clavel. *Fusarium oxysporum* f.sp *dianthi*. Últimos Avances en su Control**. Edit. Agrotécnicas, 275 pp.
- Garibaldi A. 1984. The use of suppressive soils as substrate for ornamental and flowering plants. *Acta Hort.* 150, 103-112.

- Garrabou R, Naredo JM (Eds). 1996. **La Fertilización en los Sistemas Agrarios. Una Perspectiva Histórica**. Fundación Argentaria, Visor distr., Madrid, 275 pp.
- Gautam A, Siddiqi ZA, Mahmood I. 1995. Integrated management of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematol. mediterr.* 23, 245-247.
- Georgi LL. 1988. Morphological variation in *Xiphinema* spp. from New York orchards. *J. Nematol.* 20, 617-619.
- Gerards S, Duyts H, Laanbroek HJ. 1998. Ammonium-induced inhibition of ammonium-starved *Nitrosomonas europaea* cells in soil and sand slurries. *FEMS (Microbiol. Ecol.)* 26, 269-280.
- Gimsing AL, Kirkegaard JA, Strobel BW, Hansen HCB. 2008. Fate of glucosinolates and their hydrolysis products in soil. *Proceedings of 3th Int. Biofumigation Symposium*. Canberra, Australia, 21-25 Jul., 13 p.
- Gliessman SR, García ER, Amador M. 1981. The ecological basis for the application of traditional agricultural technology in the management of tropical agro-ecosystems. *Agro-ecosystems* 7, 173-182.
- Goheen AC, Hewitt WB. 1962. Veinbanding, a new virus disease of grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 13, 73-77.
- Goitia C. 2004. **Epidemiología, Control y Repercusión Económica de los Nematodos Transmisores de Virus de la Vid en España**. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, 333 pp.
- Gómez Soriano P, Díez-Rojo MA, Sanz de la Morena R, García Álvarez A, López Martínez R. 2006. **Desinfección de Suelos Mediante Biofumigación en Replantación de Viñedo**. Consejería de Medio Ambiente Agricultura y Agua, Región de Murcia, Serie Programa de Innovación Tecnológica 19, 44 pp.
- Gonsalves D. 1979. Detection of tomato ringspot virus in grapevines. A comparison of Chenopodium quinoa and Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Plant Dis. Rep.* 63, 962-965.
- Goud JKC, Termorshuizen AJ, Blok WJ, Van Bruggen AHC. 2004. Long-term effect of biological soil disinfestation on verticillium wilt. *Plant Dis.* 88, 688-694.
- Goverse A, de Almeida Engler J, Verhees J, Krol S van der, Helder J, Gheysen G. 2000. Cell cycle activation by plant parasitic nematodes. *Plant Molecular Biology* 43, 747-761.
- 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. mediterr.* 18, 261-264.
- Greco N, D'Addabbo T, Stea V, Brandonisio A. 1992. The synergism of soil solarization with fumigant nematicides and straw for the control of *Heterodera carotae* and *Ditylenchus dipsaci*. *Nematol. mediterr.* 20, 25-32.
- Griesbach JA, Maggenti AR. 1990. The morphometrics of *Xiphinema americanum sensu lato* in California. *Rev. nématol.* 1, 93-103.

- Grimme E, Zidack NK. 2007. Comparison of *Muscodor albus* volatiles with a biorational mixture for control of seedling diseases of sugar beet and root-knot nematode on tomato. *Plant Dis.* 91, 220-225.
- Grise AT de. 1969. Redescription ou modifications de quelques techniques utilisées dans l'étude des nématodes phytoparasitaires. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent.* 34, 351-369.
- Guerrero MM, Guirao P, Lacasa A, Ros C, Torres J, Martínez MC, Oncina M, Bielza P, Contreras J. 2004. La mezcla de dicloropropeno y cloropicrina, una alternativa al BM en la desinfección de suelos para pimiento. **Desinfección de Suelos en Invernaderos de Pimiento. II Jornadas sobre Alternativas Viables al Bromuro de Metilo en Pimiento de Invernadero.** Serie: Jornadas y Congresos, 16, Región de Murcia, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, 99-125.
- Guerrero MM, Lacasa A, Ros C, Guirao P, Martínez MA, Barceló N, Bello A, Fernández P, González A. 2002a. La reiteración de la biofumigación con solarización y los efectos en la desinfección de suelos de invernaderos de pimiento. *XI Congreso SEF*, 14-18 Oct., El Ejido, Almería, 245 p.
- Guerrero MM, Martínez MA, Lacasa A, Martínez MC, Guirao P, Barceló N, Oncina M, Ros C. 2002b. Caracterización de la fatiga del suelo en invernaderos de pimiento del sureste peninsular. *XI Congreso SEF*, 14-18 Oct., El Ejido, Almería, 237 p.
- Guerrero MM, Ros C, Lacasa CM, Martínez V, Fernández P, Bello A, Lacasa A. 2008. Control de nematodos en invernaderos de pimiento mediante biosolarización con enmiendas orgánicas. *Actas VIII Congreso SEAE*, 16-20 Sept., Bullas, Murcia, 87 p.
- Guerrero MM, Ros C, Martínez MA, Martínez MC, Bello A, Lacasa A. 2006. Biofumigation vs biofumigation plus solarization to control *Meloidogyne incognita* in sweet pepper. *Bulletin OILB/Crop* 29, 313-318.
- Guiran G de. 1961. **Les Nematodos Parasites de Plantes Cultivées aux Iles Canaries.** Rapport de Mission effectuée du 6-17 Dec. 1960, 32 pp.
- Gullino ML. 1995. Use of biocontrol agents against fungal diseases. *Proc. Conf. Microbial Control Agents in Sustainable Agriculture*, Saint Vincent, 50-59.
- Gullino ML, Camponogara A, Gasparrini G, Rizzo V, Clini C, Garibaldi A. 2003. Replacing methyl bromide for soil disinfestation. The italian experience and implications for other countries. *Plant Dis.* 87, 1012-1021.
- Gullino ML, Minuto G. 1997. Alternativas al bromuro de metilo como desinfestante del suelo, con especial referencia a la situación en Italia. *In: A Bello, JA González, J Pérez-Parra, JC Tello (Eds). Alternativas al Bromuro de Metilo en Agricultura.* Congresos y Jornadas, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía 44/97, 173-183.
- Gunlanngsson B, Adalsteinsson S. 1995. Pumice as environment-friendly substrate, a comparison with rockwool. *Acta Hort.* 401, 131-136.

- Guzmán-Casado G, González de Molina M, Sevilla Guzmán E (Eds). 1999. **Introducción a la Agroecología como Desarrollo Rural Sostenible**. Edit. Mundi-Prensa, Madrid, 535 pp.
- Hader Y, Mandelbaum R, Gorodecki B. 1992. Biological control of soilborne plant pathogens by suppressive compost. *In*: ES Tjamos, GC Papavizas, RJ Cook (Eds). **Biological Control of Plant Diseases**. Plenum Press, New York, 79-83 pp.
- Haeckel EH. 1869. *In*: R Margalef. 1974. **Ecología**. Edit. Omega, Barcelona, 1 p.
- Hafner P. 1988. Börner-eine neue Rebuterlage. *Obstbau Weinbau* 35, 370 p.
- Harris AR. 1979. Seasonal populations of *Xiphinema index* in vineyard soils of Northeastern Victoria, Australia. *Nematologica* 25, 336-347.
- Harrison UJ, Louws FJ. 1999. Disease management through suppressive soils. Department of Plant Pathology. North Carolina State University (draft document). September 23th, 14 p.
- Hartman KM, Sasser JN. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. *In*: KR Barker, CC Carter, JN Sasser (Eds). **An Advanced Treatise on Meloidogyne, Vol. II. Methodology**. North Carolina State University Graphics, Raleigh, 69-77.
- Hashimoto T, Nishi K. 2001. Effect of soil sterilization with hot water injection on bacterial and protozoan dynamics. *Kyushu Agricultural Research* 63, 52 p.
- Hawke MA, Lazarovits G. 1994. Production and manipulation of individual microsclerotia of *Verticillium dahliae* for use in studies of survival. *Phytopathology* 84, 883-890.
- Heald C. 1987. Classical nematode management practices. *In*: J Veech, D Dickson (Eds). **Vistas on Nematology**. Society of Nematologists, Hyattsville, MD, 100-104.
- Hewitt WB. 1956. Fanleaf virus of grapevines is a soil-borne. *Phytopathology* 48, 568-593.
- Hewitt WB, Raski DJ, Goheen AC. 1958. Nematode vector of soil-borne fanleaf virus of grapevines. *Phytopathology* 48, 586-595.
- Hewlett TE, Dickinson DW, Mitchell DJ, Kannwischker MKE. 1990. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biological control agent of *Meloidogyne javanica* in tobacco. *J. Nematol.* 20, 578-584.
- Heyns J. 1974. The genus *Xiphinema* in South Africa. II. *X. elongatum* group. *Phytophylactica* 6, 249-260.
- Hoitink HAJ. 1988. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24, 93-114.
- Hoitink HAJ, Boehm MJ. 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Ann. Rev. Phytopathology* 37, 427-446.
- Horiuchi S. 1991. Soil solarisation in Japan. *In*: J Katan, JJ De Vay (Eds). **Soil Solarisation**. CRC Press. Boca Raton, 216-225.
- Hoyos P, Molina S, Palomar C. 2004. **Experimentación Hortícola en Castilla-La Mancha**. Consejería de Agricultura de Castilla-La Mancha, Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (Edit.), Toledo, 411 pp.

- Hunt DJ. 1993. **Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae: Their Systematics and Biomics**. CAB International, St. Albans, UK, 352 pp.
- Hussey RS. 1989. Disease-inducing secretions of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 27, 123-141.
- Hussey RS, Davis E, Baum T. 2002. Secrets in secretions: genes that control nematode parasitism of plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 14, 183-194.
- Ibáñez JJ, Bello A, García Álvarez A. 2005. La conservación de los suelos europeos. Un análisis crítico de la actual estrategia de la Unión Europea. *In: A Callaba, I Iribarren, P Fernández Canteli (Eds). Protección del Suelo y el Desarrollo Sostenible*. Publicaciones del IGME, MEC, Madrid, Serie Medio Ambiente 6, 133-161.
- Jackson W, Berry W. 2009. A 50-year farm bill. *New York Times* 21-1-2009, A-21 p. <http://www.nytimes.com/2009/01/05/opinion/05berry.html>.
- Jha A, Posnette AF. 1959. Transmission of a virus to strawberry plants by a nematode (*Xiphinema* sp.). *Nature* 184, 962-963.
- Jiménez F, Goheen AC. 1980. The use of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detection of grape fanleaf virus. *Proc. 7th meeting of the int. Council for the study of viruses and virus like Diseases of the grapevine*, Niagara Falls, 283-291.
- Jiménez Herrero LM. 1996. **Desarrollo Sostenible y Economía Ecológica: Integración Medio Ambiente-Desarrollo y Economía-Ecología**. Edit. Síntesis, Madrid, 363 pp.
- Jiménez-Millán F, Arias M, Bello A, López Pedregal JM. 1965. Catálogo de los nematodos fitoparásitos y peri-radicales encontrados en España. *Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.)* 63, 47-104.
- Jiménez Millán F, Bello A, Arias M, López Pedregal JM. 1964. Morfología de las especies del género *Meloidogyne* (Nematoda) de varios focos de infección de cultivos españoles. *Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.)* 62, 143-153.
- Karssen G. 2002. **The Plant-Parasitic Nematode Genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe**. Edit. Koninklijke Brill NV, Leiden, The Netherlands, 157 pp.
- Katan J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. *Annual Review of Phytopathology* 19, 211-236.
- Katan J. 1993. Replacing pesticides with nonchemical tools for the control of soilborne pathogens - A realistic goal?. *Phytoparasitica* 21, 95-99.
- Katan J, Vay JE de (Eds). 1991. **Solarization**. CRC Press Boca Ratón Ann Arbor, Boston, London, 267 pp.
- Kavroulakis N, Ehaliotis C, Ntougias S, Zervakis GI, Papadopoulou KK. 2005. Local and systemic resistance against fungal pathogens of tomato plants elicited by a compost derived from agricultural residues. *Physiol. Mol. Plant P.* 66, 163-174.
- Keel C, Koller B, Defago G. 1990. **Plant growth-promoting rhizobacteria: progress and prospects**. *Second International Workshop on PGPR*, Interlaken, Switzerland, 418 pp.

- Keener HM, Dick WA, Hoitink HAJ. 2000. Land application of agricultural, industrial, and municipal by-products. *In: JM Bartels, WA Dick (Eds). Soil Science Society of America, Book Series 6, 315-341.*
- Kerry B, Hidalgo-Díaz L. 2006. Developing a microbial biological control agent for root-knot nematodes with special reference to *Pochonia chlamydosporia*. *Abstracts XXXVIII ONTA Meeting, San José, Costa Rica, 26-30 Jun., 59 p.*
- Khan FA. 1988. A preliminary report on plant parasite nematodes associated with grapevine in Northern Nigeria. *International Network Newsletter 5, 45-47.*
- Kirkegaard JA, 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 JA, Angus JF, Gardner PA, Cresswell HP. 1993a. Benefits of brassica break crops in the Southeast wheatbelt. *Proc. 7th Aust. Agron. Cons. Adelaide, 19-24 Sept, 282-285.*
- Kirkegaard JA, Gardner PA, Angus JF, Koetz E. 1994. Effect of Brassica crops on the growth and yield of wheat. *Aust. J. Agric. Res. 45, 529-545.*
- Kirkegaard JA, Gardner J, Desmarchelier JM, Angus JF. 1993b. Biofumigation using *Brassica* species to control pest and diseases in horticulture and agriculture. *In: N Wrather, RJ Mailes (Eds). Proc. 9th Australian Research Assembly on Brassicas (Wagga Wagga) 77-82.*
- Kirkegaard JA, Sarwar M. 1998. Biofumigation potential of Brassicas - I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown Brassicas. *Plant and Soil 201, 71-89.*
- Kunde RM, Lider LA, Schmitt RV. 1968. A test of *Vitis* resistance to *Xiphinema index*. *Amer.J. Enol. Viticult. 19, 30-36.*
- Kuniyasu K, Takeuchi S. 1986. Control of fusarium wilt of tomato by soil sterilization with hot water. *Bulletin of the Vegetable and Ornamental Crops Research Station Japan, Ser. A. 14, 141-148.*
- Labrador J (Ed.). 2004. **Conocimientos Técnicas y Productos Para la Ganadería Ecológica**. Sociedad Española de Agricultura Ecológica, Edit. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. 423 pp.
- Lacasa A, Guerrero MM, Guirao P, Ros C. 2002. Alternatives to methyl bromide in sweet pepper crops in Spain. *In: T Batchelor, JM Bolivar (Eds). Proceedings of International Conference on Alternatives to MB. "The Remaining Challenges", European Commission, Sevilla, 5-8 marzo. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 187-192.*
- Lal R, Regnier E, Exkert DJ, Edwards WM, Hammond R. 1991. Expectations of cover crops for sustainable agriculture. *In: WL Hargrove (Ed.) Cover Crops for Clean Water. Soil and Water Conservation Soc. Iowa, 1-14.*

- Lamberti F. 1989. Nematode parasites of grapevine and their control. In: R. Cavalloro (Ed.) **Plant-Protection Problems and Prospects of Integrated Control in Viticulture**. Proceedings of the CEC/10BC International Symposium, June 1988, Lisboa-Vila Real, Portugal. L-2920 Luxemburg; Commission of the European Communities EUR Publication (1989) EUR 11548, 163-172 ISBN 92-826-0940.
- Lamberti F, Sasanelli N, D'Áddabbo T, Carella A. 2001. Combination of soil solarisation and chemical treatments for the control of root-knot nematodes in southern Italy. *2001 Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, 5-9 Nov., San Diego, California, EEUU, paper 11.
- Lamberti F, Siddiqi MR. 1977. *Xiphinema pachtaicum* (=X. *mediterraneum*). CIH Descriptions of Plant-parasitic Nematodes No. 94. CAB International, Wallingford, UK.
- Lamberti F, Taylor C, Seinhorts JW. 1974. **Nematodes Vectors of Plant Viruses**. NATO Advanced Study Institutes Series. Serie A. Plenum Press, London, 460 pp.
- Lamberti F, Taylor CE, Seinhorst JW (Eds). 1985. **Nematode Vectors of Plant Viruses**. Plenum Press, London, 460 pp.
- LaMondia J, Halbrecht J. 2008. The effects of *Brassica* seed meal amendments on *Meloidogyne hapla* viability in laboratory bioassays. *Proceedings of 3th Int. Biofumigation Symposium*. Canberra, Australia, 21-25 Jul., 19 p.
- Lamotte M. 1976. **Estadística Biológica. Principios Fundamentales**. Edit. Toray-Massou, S.A, Barcelona, 163 pp.
- Lazarovits G. 2001. Management of soil-borne plant pathogens with organic soil amendments: a disease control strategy salvaged from the past. *Can J. Plant Pathol* 23, 1-7.
- Lazarovits G. 2004. Managing soilborne plant diseases through selective soil disinfestation by a knowledge based application of soil amendments. *Phytoparasitica* 32, 427-431.
- Lazarovits G, Conn KL, Abbasi PA, Tenuta M. 2005. Understanding the mode of action of organic soil amendments provides the way for improved management of soilborne plant pathogens. *Acta Hort.* 689, 215-224.
- Lazarovits, G, Conn KL, Potter J. 1999. Reduction of potato scab, *Verticillium* wilt, and nematodes by soymeal and meat and bone meal in two Ontario potato fields. *Can. J. Plant Pathol.* 21, 345-353.
- Lazarovits G, Tenuta M, Conn K.L. 2001. Organic amendments as a disease control strategy for soilborne diseases of high-value agricultural crops. *Australas. Plant Path.* 30, 111-117.
- Lazzeri L, Leoni O, D'Avino L, Malaguti L. 2008 Biorefinery - Brassicaceae plants as more than biofumigants! *Proceedings of 3th Int. Biofumigation Symposium*. Canberra, Australia, 21-25 Jul., 22 p.
- Lazzeri L, Leoni O, Manici LM. 2004. Biocidal plant dried pellets for biofumigation. *Industrial Crops and Products* 20, 59-65.

- Lazzeri L, Manici LM. 2000. The glucosinolate-myrosinase system: A natural and practical tool for biofumigation. *Acta Hort.* 532, 89-95.
- Le Bihan B, Soulas ML, Camporota P, Salerno MI, Perrin R. 1997. Evaluation of soil solar heating for control of damping-off fungi in two forest nurseries in France. *Biology and Fertility of Soils* 25, 189-195.
- Lehmann H, Wyss U. 1978. The ultrastructure of modified root-tip cells induced by the feeding of an ectoparasitic nematode. In: JM Sturges (Ed.). **Electron Microscopy Vol.II: Biology . 9th Int. Cong. on "Electron Microscopy"**, 1-9 Aug., Toronto, Ontario, Canada, Microscopical Society of Canada, 438-439.
- Leij FAAM de, Kerry BR, Dennehy JA. 1993. *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pot and micro-plot tests. *Nematologica* 39, 115-126.
- León L de, Acosta P, Bello A. 2002. Investigación participativa y compromiso social para una gestión ecológica en horticultura. *V Congreso SEAE y I Congreso Iberoamericano de Agroecología*. Gijón, España, 16-21 de Sep., 389-397.
- Lightfoot C. 1990. Integration of aquaculture and agriculture: a route to sustainable farming systems. *Naga, the ICLARM Quarterly* 13, 9-12.
- Liñán C de. 2009. **Vademecum de Productos Fitosanitarios y Nutricionales 2009** (25ª Edición). Edit. Agrotécnicas, 784 pp.
- Lister RM. 1964. Strawberry latent ringspot a new nematode-borne virus. *Ann. Appl. Biol.* 7, 167-176.
- López R. 1996. Morfometría y patrones enzimáticos de tres razas de *Meloidogyne incognita* (Nematoda: Meloidogynidae). *Turrialba* 36, 321-328.
- López-Aranda JM, Miranda L, Romero F, Santos B de los, Soria C, Medina JJ, Montes F, Vega JM, Paez JI, Bascón J, Martínez-Treceño A, García Sinovas D, García-Méndez E, Becerril M, Cal A de, Salto T, Martínez-Beringola ML, Melgarejo P. 2004. Main Results of Trials on MB Alternatives for Strawberry Fruit and Runners Produced in Spain. In: T Batchelor, F Alfarroba. (Eds). **Proceedings of Fifth International Conference on Alternatives to MB**. 27-30 Sept., Lisboa, Portugal, European Commission, Brussels, Belgium, 35-39.
- López-Aranda JM, Santos BM, Gilreath J, Miranda L, Soria C, Medina JJ. 2005. Evaluation of MB alternatives for strawberry in Florida and Spain. *Annual International Research Conference on MB Alternatives and Emissions Reductions*, 31 Oct.-3 Nov., San Diego, California, EE UU, 9.1-9.1.
- López-Cepero J. 2009. **Agroecología y Manejo de Nematodos en Cultivos Protegidos de Canarias**. Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna, 314 pp.

- López-Cepero J, Piedra Buena A, Díez-Rojo MA, Regalado R, Brito E, Hernández Z, Figueredo M, Almendros G, Bello A. 2007. Evaluation of soil biodesinfestation with crop and garden residues in root-knot nematodes populations. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. Ghent University 72, 703-712.
- López-Fando C, Bello A. 1997. Efecto de los sistemas de laboreo en la biología del suelo. In: L García Torres, P González Fernández (Eds). **Agricultura de Conservación: Fundamentos Agronómicos, Medioambientales y Económicos**. Asociación Española de Laboreo de Conservación, Córdoba, 202-223.
- López-Gálvez J, Naredo JM. 1996. **Sistemas de Producción e Incidencia Ambiental del Cultivo en Suelo Enarenado y en Sustratos**. Fundación Argentaria y Visor Dis, Madrid, 294 pp.
- López-Gálvez J, Peil RM. 2000. La modernidad del sistema de producción hortícola del sudeste español. *Plasticulture* 119, 44-81.
- 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. *VI Congreso SEAE*, 27 Sept.- 2 de Oct., Almería, 1531-1539.
- López-Pérez JA, Arias M, Sanz R, Escuer M. 2003a. Evaluation of alternatives to methyl bromide to control *Meloidogyne incognita* in cucumber. *Nematropica* 33, 189 - 196.
- López-Pérez JA, Arias M, Sanz R, Escuer M. 2003b. Alternatives to the methyl bromide in greenhouse crops in Madrid community. (Alternativas al bromuro de metilo en cultivos protegidos de la Comunidad de Madrid). *Bol. San. Veg. Plagas* 29, 481- 489.
- López-Pérez JA, Bello A, García Álvarez A, Sanz R, Díez-Rojo MA, Ferrándiz JC, Domene R. 2002. Ecología y control de *Meloidogyne incognita* en hortalizas de la comarca de Villena (Alicante). *V Congreso SEAE. I Congreso Iberoamericano de Agroecología*. 16-21 de Sept., Gijón, 1067-1078.
- López-Pérez JA, Bello A, Sanz R, García Álvarez A. 2003c. Agroecología del nematodo formador de nódulos *Meloidogyne incognita*. In: A Bello, JA López-Pérez, A García Álvarez (Eds). **Biofumigación en Agricultura Extensiva de Regadío. Producción Integrada de Hortícolas**. CSIC-Caja Rural de Alicante, Mundi-Prensa, Madrid, 321-339.
- López-Pérez JA, Escuer M, Díez-Rojo MA, Robertson L, Piedra Buena A, López-Cepero J, Bello A. 2010. Host range and biotypes of *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 (Nematoda: Meloidogynidae) in Spain. *Nematropica* (en prensa).
- López-Pérez JA, Robertson L, Bello A, Escuer M, Díez-Rojo M.A, Piedra Buena A, Ros C, Martínez C. 2004. Resistencia en pimiento a nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* Göldi, 1892. *Actas de Horticultura* 41, 149-152.
- López-Robles J. 1988. El nematodo de la remolacha *Heterodera schachtii*. Importancia económica y medidas de control. *Phytoma España* 4, 17-22.
- López-Robles J, Otto AA, Hague NGM. 1997. Evaluation of entomopathogenic nematodes on the beet cyst nematode *Heterodera schachtii*. *Ann. Appl. Biol.* 128, 100-101.

- Lynch VM. 1977. Phytotoxicity of acetic acid produced in the anaerobic decomposition of wheat straw. *J. Appl. Bacteriol.* 42, 81–87.
- Lynch VM. 1978. Production and phytotoxicity of acetic acid produced in anaerobic soils containing plant residues. *Soil Biol. Biochem.* 10, 131–135.
- Lung G. 1997. Biological control of nematodes with the enemy plants *Tagetes* sp. *Integrated Production and Protection, International Symposium*, 6-9 May, Agadir, 296-303.
- Mahran A, Tenuta M, Hanson ML, Daayf F. 2008. Mortality of *Pratylenchus penetrans* by volatile fatty acids from liquid hog manure. *J. Nematol.* 40, 119-126.
- Man JG de. 1880. Die einheimischen, frei in der reinen Erde und im süßem Wasser lebenden Nematoden Worläufiger Bericht and descriptivs systematischen. *Theil. Tijdschr. Nedel. Dierk. ver.* 5, 1-104.
- MAPA. 1994. **Métodos Oficiales de Análisis**. Tomo III. Madrid, 662 pp.
- Margalef R. 1974. **Ecología**. Edit. Omega, Barcelona, 951 pp.
- Martelli GP. 1978. Nematode borne-viruses of grapevine. In: P.R. Scott, A. Brainbridge (Eds). **Plant Disease Epidemiology**. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, 274-282.
- Martelli GP, Savino V. 1988. Fanleaf degeneration. In: R.C. Pearson, A.C. Goheen (Eds). **Compendium of Grape Diseases**. American Phytopathological Society Press, St Paul, Minnesota, 48-49
- Martínez F. 2007. **Vinaza de Remolacha: una Alternativa para la Fertilización Orgánica y Mineral en los Principales Sistemas de Producción Agrícola**. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid, 272 pp.
- Martínez MA, Guerrero MM, Martínez MC, Barceló N, Ros C, Lacasa A, Tello J. 2004. Efecto de la biofumigación con solarización reiterada sobre la microbiota fúngica de la rizosfera del pimiento. *VI Congreso SEAE*, 27 Sept. - 2 Oct. 2004, Almería, nº 222.
- Martínez-Beringola ML, Franco L, Paz-Vivas LM, Gutiérrez MP. 1987a. Distribución en España de *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*. *Nematol. medit.* 15, 183-191.
- Martínez-Beringola ML, Franco L, Paz-Vivas LM, Gutiérrez MP. 1987b. Patotipos españoles de *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*. *Nematol. medit*, 15, 193-203.
- Mathre DE, Cook RJ, Calla NW. 1999. From discovery to use: traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control. *Plant Disease* 83, 972–983.
- Matthiesen JN, Kirkegaard JA. 1993. Biofumigation, a new concept for “clean and green” pest and disease control. *Western Australian Potato Grower* October, 14-15.
- Maung O. 1959. Effects of *Meloidogyne incognita acrita* and *Trichodorus christiei* on the nutrients levels of tomato. *Phytopathology* 49, 524 p.
- Mauro MC, Coutos-Thevenot P, Boulay M, Valat L, Barbier P, Walter B, Pinck L. 2000. Analisis of 41 B (*Vitis vinifera* X *V.berlandier*) grapevine rootstocks for grapevine fanleaf virus resistance. *Procc. 7th Internat. Symp. on Grapevine Genetics and Breeding*. Montpellier, France 6-10 July. *Acta Hortic.* 528, 313-319.

- MBTOC. 1995. **1994 Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. 1995 Assessment.** Montreal Protocol on substances that deplete the ozone layer. UNEP, Nairobi, Kenia, 309 pp.
- MBTOC. 1997. **Report of the Technology and Economic Assessment Panel.** UNEP, Nairobi, Kenia, 221 pp.
- MBTOC. 1998. **Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. 1998 Assessment of Alternatives to Methyl Bromide.** UNEP, Nairobi, Kenia, 354 pp.
- MBTOC. 2002. **Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee.** UNEP, Nairobi, Kenia, 468 pp.
- MBTOC. 2007. **2006 Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. MBTOC Assessment Report.** UNEP, Nairobi, Kenia, 453 pp.
- MBTOC. 2008. **October 2008 Report of the Technology and Economic Assessment Panel. Evaluations of 2008 Critical Use Nominations for Methyl Bromide and Related Matters.** Final Report. Ozone Secretariat UNEP, UNON, Nairobi, Kenia, 111 pp.
- MBTOC. 2009. **November 2009 Report of the 21st Meeting of the Parties to the Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer.** UNEP (UNEP/OzL.Pro. 21/9). Port Ghalib, Egypt, 4-8 November 2009, 66 pp.
- MBTOC. 2010. **Report of the Technology and Economic Assessment Panel. Evaluations of 2009 Critical Use Nominations for Methyl Bromide and Related Matters.** Final Report. Ozone Secretariat UNEP, Nairobi, Kenia, (advance).
- McCalla A. 1999. Tendencias agrarias mundiales en el siglo XXI. *In: Foro Agrario (Ed.) La Agricultura en el Umbral del Siglo XXI.* Edit. Mundi-Prensa, Madrid, 13-31.
- McFarlane SA. 2003. Molecular determinants of the transmission of plant viruses by nematodes. *Mol. Plant Pathol.* 4, 211-215.
- McSorley R. 1998. Alternative practices for managing plant-parasitic nematodes. *American Journal of Alternative Agriculture* 13, 98-104.
- McSorley R. 2000. Cover crops for management of root-knot nematodes. *Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, 6- noviembre 2000, Orlando, Florida, EE UU, 34 p.
- McSorley R, Wang KH, Kokallis-Burelle N. 2006. Solarization as an alternative to methyl bromide in Florida floriculture. *Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, 6-9 Nov 2006 Orlando, Florida, USA.
- Medina JJ. 2002. Soil solarization and biofumigation in strawberry in Spain. *In: T Batchelor, JM Bolivar (Eds). International Conference on Alternatives to MB "The Remaining Challenges"*, European Commission, 5-8 Mar. 2002, Sevilla. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 123-125.
- Mekete T, Hallmann J, Kiewnick S, Sikora R. 2009. Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*. *Nematology* 11, 117-127.

- Mennan S, Chen SY, Melakeberhan H. 2006. Suppression of *Meloidogyne hapla* populations by *Hirsutiella minnesotensis*. *Biocontrol Science and Technology* 16, 181-193.
- Mercier J, Manker DC. 2005. Biocontrol of soil-borne diseases and plant growth enhancement in glasshouse soilless mix by the volatileproducing fungus *Muscodor albus*. *Crop Prot.* 24, 355-362.
- Messiha NAS, van Bruggen AHC, van Diepeningen AD, Vos OJ de, Termorshuizen AJ, Tjou-Tam-Sin NNA, Janse JD. 2007. Potato brown rot incidence and severity under different management and amendment regimes in different soil types. *Eur. J. Plant Pathol.* 119, 367-381.
- Michel VV, Wang JF, Midmore DJ, Hertman GL. 1997. Effects of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil-borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. *Plant Pathol.* 46, 600-610.
- Minuto A, Migheli Q, Garibaldi A. 1995. Evaluation of antagonistic strains of *Fusarium* spp. in the biological and integrated control of *Fusarium* wilt of cyclamen. *Crop Prot.* 14, 221-226.
- Monserrat P. 1961. Las bases de la práticamente moderna. Caja de Pensiones de Cataluña. *Boletín Agropecuario*, 99-124.
- Monserrat P. 2009. **La Cultura que Hace el Paisaje. Escritos de un Naturalista sobre Nuestros Recursos de Montaña.** Edit. La Fertilidad de la Tierra, Estella, Navarra, 236 pp.
- Montealegre JR, Herrera R, Velásquez JC, Silva P, Besoain X, Pérez LM. 2005. Biocontrol of root and crown rot in tomatoes under greenhouse conditions using *Trichoderma harzianum* and *Paenibacillus lentimorbus*: Additional effect of solarization. *Electronic Journal of Biotechnology* 8, 249-257.
- Mumm R, Burow M, Bukovinszkinékiss G, Kazantzidou E, Wittstock U, Dicke M, Gershenzon J. 2008. Formation of simple nitriles upon glucosinolate hydrolysis affects direct and indirect defense against the specialist herbivore, *Pieris rapae*. *J. Chem. Ecol.* 34, 1311-1321.
- Navas A, Arias M. 1986. On the distribution and ecology of *Xiphinema index* and *Xiphinema italiae* in Spain. *Nematol. mediterr.* 14, 207-215.
- Needham T. 1744. A letter concerning certain chalky tubulous concretions, called malm; with some microscopical observations on the farina of the red lily, and of worms discovered in smutty corn. *Philos. Trans. Roy. Soc. London* 42, 634-641.
- Nickle WR. 1991. **Manual of Agricultural Nematology.** Marcel Decker Inc, New York, 1035 pp.
- Nishi K (Ed.). 2002. **Hot Water Soil Sterilization: Theories and records of application.** Japan Greenhouse Horticulture Association, Tokyo, 185 p.

- Nolasco GNB. 1982. *A Diagnose Rápida do Vírus do Urticado (no curto) da Videira Pelo Teste ELISA*. Relatório de actividade do Aluno estagiário do curso de Agronomia, Universidad Técnica de Lisboa, 51 pp.
- Nolasco G, de Blas C, Borja MJ, Torres V, Ponz F. 1992. *Procedimiento para la detección e identificación de patógenos virales y subvirales*. Patente P9201232. Registro de la Propiedad Industrial de España.
- Noling J. 2000. Impacts of alternative fumigants on soil pest control and tomato yield. *Annual International Research Conference on MB Alternatives and Emissions Reductions*, 6-9 Nov. 2000, Orlando, Florida, EE UU, 30.1-30.3.
- Noling J, Gilreath J. 2004. Evaluations of chemical alternatives to MB for nematode control and tomato yield in field microplots. *Annual International Research Conference on MB Alternatives and Emissions Reductions*, 31 Oct.-3 Nov. Orlando, Florida, EEUU, 50.1-50.3.
- Nombela G, Bello A. 1983. Modificaciones al método de extracción de nematodos fitoparásitos por centrifugación en azúcar. *Boletín del Servicio de Plagas* 9, 183-189.
- Norton DC. 1978. **Ecology of Plant-Parasitic Nematodes**. John Wiley & Sons, New York, 268 pp.
- Noval Alonso C. 2004. Uso del BM en España. *Actas de Horticultura. Comunicaciones Técnicas Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. IX Jornadas del Grupo de Horticultura. Comunicaciones*, Derio, Bizkaia, 7-9 de septiembre de 2004, 42, 53-59.
- Ohr H, Sims J, Grech N, Becker J, McGiffin M. 1996. Methyl iodide, an ozone-safe alternative for MB as a soil fumigant. *Plant Dis.* 80, 731-735.
- Oka 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments—A review. *Appl. Soil Ecol.* 44, 101–115
- Olthof THA, Potter JW. 1971. The relation between preplant populations of *Meloidogyne hapla* and crop losses in field-grown vegetables in Ontario. *J. Nematol.* 3, 322 p.
- Ornat C, Verdejo-Lucas S, Sorribas FJ. 2001. A population of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the *Mi* resistance gene in tomato. *Plant Dis.* 85, 271-276.
- Ornat C, Verdejo-Lucas S, Sorribas FJ, Santero I. 1999. El nematodo *Meloidogyne* en los cultivos hortícolas de los invernaderos de Almería. *Phytoma-España* 106, 27-34.
- Orton Williams KJ. 1972. *Meloidogyne javanica*. *C.I.H. Descriptions of Plant Parasitic Nematodes*, Set 1, N° 3, 4 pp.
- Orton Williams K.J. 1973. *Meloidogyne incognita*. *C.I.H. Descriptions of Plant Parasitic Nematodes*, Set 2, N° 18, 4 pp.
- Orton Williams KJ. 1974. *Meloidogyne hapla*. *C.I.H. Descriptions of Plant Parasitic Nematodes*, Set 3, N° 31, 4 pp.
- Orton Williams KJ. 1975. *Meloidogyne arenaria*. *C.I.H. Descriptions of Plant Parasitic Nematodes*, Set 5, N° 62, 4 pp.

- Ortuño A, Gómez-Gómez J, Canovas F. 1969. Poblaciones nematológicas fitoparásitas en los suelos de la huerta de Murcia. *Anales de Edafología y Abrobiología* 28, 389-397.
- Osman HA, Dickson DW, Smart GC. 1985. Morphological comparisons of host races 1 and 2 *Meloidogyne arenaria* from Florida. *J. Nematol.* 17, 279-285.
- Ou LT, Chung KY, Thomas JE, Obreza TA, Dickson DW. 1995. Degradation of 1,3-dichloropropene (1,3-D) in soils with different histories of field applications of 1,3-D. *J. Nematol.* 25, 249-257.
- Ozores-Hampton M, Stansly PA, McSorley R, Obreza TA. 2005. Effects of long-term organic amendments and soil solarization on pepper and watermelon growth, yield, and soil fertility. *HortScience* 40, 80-84.
- Ozturk A, Yilmaz S, Kececi M, Unlu A, Deviren A, Ozcelik A, Cetinkaya S, Cevri H, Akkaya F, Ozkan CF. 2002. Alternatives to methyl bromide for tomato and cucumber production in Turkey. In: T Batchelor, JM Bolivar (Eds). *Proceedings of the International Conference on Alternatives to Methyl Bromide*, 5-8 Mar. 2002, Sevilla, España, 209- 214.
- Page GLJ, Brigde J. 1985. Observations on *Pasteuria penetrans* as a parasite of *Meloidogyne acronera*. *Nematologica*, 31, 238-240.
- Pascual JA, Lloret E, Mercader D, Fernández P, Lacasa A. 2008. Implicaciones medioambientales de la biosolarización en cuanto a la lixiviación de nitratos. Estudios sobre columnas de suelo inalteradas. *VIII Congreso SEAE*. 17-20 sept. 2008, Bullas, Murcia, 97 p.
- Piedra Buena A. 2004. **Agroecología de *Meloidogyne Göldi*, 1892 (Nematoda: Heteroderidae) en Cultivos Hortícolas Protegidos**. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad de Almería, 397 pp.
- Piedra Buena A, García-Álvarez A, Díez-Rojo MA, 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 MA, Ros C, Fernández P, Lacasa A, Bello A. 2007. Use of pepper crop residues for the control of root-knot nematodes. *Bioresource Technology* 98, 2846-2851.
- Piedra Buena A, López-Pérez JA, Díez-Rojo MA, Robertson L, Escuer M, Bello A. 2009. Screening of host suitability of three sweetpotato cultivars for root-knot nematodes management. *Pest Management Science* (en revisión)
- Pizano M. 2004a. Overview of alternatives to Methyl Bromide for cut flower production in industrialized countries. In: T Batchelor, F Alfarroba (Eds). *Fifth International Conference on Alternatives to Methyl Bromide*, 27-30 Sept. 2004, Lisboa, Portugal.
- Pizano M. 2004b. Alternatives to MB for the production of cut flowers and bulbs in developing countries. In: TA Batchelor, F Alfarroba (Eds). *Fifth International Conference on Alternatives to Methyl Bromide*, 27-30 Sept. 2004, Lisboa, Portugal, 81-86.

- Poinar Jr GO. 1983. **The Natural History of Nematodes**. Prentice Hall Inc, New Jersey, 323 pp.
- Porras M, Romero E, Barrau C, Romero F. 2008. Efecto de la biofumigación con *Brassica carinata* y de la solarización sobre *Phytophthora cactorum* en el cultivo de la fresa. *XIV Congreso SEF*, 15-19 sept. 2008, Lugo, 361 p.
- Porter IJ, Mattner SW, Banks J, Fraser P. 2006. Impact of global methyl bromide phase-out on the sustainability of strawberry industries. *Acta Hort.* 708, 179-185.
- Porter IJ, Mattner SW, Lazarovits G. 2008. Soil biofumigation – a strategy for the new world or a complexity too hard to get right?. *Proceedings of 3th Int. Biofumigation Symposium*. Canberra, Australia, 21-25 Jul., 12 p.
- Postma J, Rattink H. 1992. Biological control of fusarium wilt of carnation with a nonpathogenic isolate of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Botany* 70, 1199-1205.
- Prota U. 1970. Sull'influenza di alcune caratteristiche del suolo e dell'età delle viti sulla distribuzione di *Xiphinema index* Thorne et Allen in Sardegna. *Studi Sassari. Sez. III*. 18, 1-12.
- Radewald JD, Raski DJ. 1962. A study of the life cycle of *Xiphinema index*. *Phytopathology* 52, 748-749.
- Rammah A, Hirschmann H. 1990. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne javanica*. *J. Nematol.* 22, 56-68.
- Rammah A, Hirschmann H. 1993. Morphological comparison of seven hypotriploid populations of *Meloidogyne arenaria* with typical triploid population. *J. Nematol.* 25, 103-120.
- Ramsdell DC, Andrews RW, Gillet JW, Morris CE. 1979. A comparison between enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and *Chenopodium quinoa* for detection of peach rosette mosaic virus in Concord grapevines. *Plant Dis. Rep.* 63, 74-78.
- Raski DJ, Hewitt WB, Goheen AC, Taylor CE. 1965. Survival of *Xiphinema index* and reservoirs of fanleaf virus in fallowed vineyard soils. *Nematologica* 11, 349-352.
- Real Decreto 261/1996 de 16 de febrero sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias.
- Regalado R, Brito E, López-Cepero J, Bello A. 2006. Efectos de la biofumigación con residuos de cultivo sobre un suelo de cultivo de tomates. *VII Congreso SEAE*, 18-23 sept. 2006, Zaragoza, nº 82.
- Reyes JM, Cara M de, Diáñez F, Santos M, Blanco R, Segura JM, Sánchez JA, Tello JC. 2004a. Desinfección de suelos mediante biofumigación, solarización y biosolarización en el olivar. *VI Congreso SEAE*, 27 sept.-2 oct. 2004, Almería, 599-613.

- Reyes JM, Cara M de, Diánez F, Santos M, Segura JM, Blanco R, Sánchez J.A, Tello J. 2004b. Efecto de la solarización, biofumigación y biosolarización sobre una fracción de la microbiota fúngica del suelo del olivar. *VI Congreso SEAE*, 27 sept.-2 oct. 2004, Almería, 583-597.
- Reynolds LB, Potter JW, Ball-Coelho BR. 2000. Crop rotation with *Tagetes* sp. is an alternative to chemical fumigation for control of root-lesion nematodes. *Agronomy Journal* 92, 957-966.
- Ridolfi M, Patumi M, D'Addabbo T, Sassanelli N, Lemos RJ. 2001. Enzymatic response of olive varieties to parasitism by *Xiphinema index* (Nematoda: Longidoridae). *Russian J. Nematol.* 9, 25-32.
- Riga E, Lacey L.A, Guerra N. 2008. *Muscodor albus*, a potential biocontrol agent against plant-parasitic nematodes of economically important vegetable crops in Washington State, USA. *Biological Control* 45, 380-385
- Robertson L, Díez-Rojo MA, López-Pérez JA, Bello A, Piedra Buena A, Escuer M, López-Cepero J, Martínez C. 2010. Characterization of *Meloidogyne arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, and *M. javanica* populations from Spain parasitizing tomato (*Solanum lycopersicum* L.) carrying the *Mi* resistance gene. *Crop Prot.* (en revisión).
- Robertson L, Díez-Rojo MA, López-Pérez JA, Piedra Buena A, Escuer M, López-Cepero J, Martínez C, Bello A. 2009. New host races of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, and *M. javanica* from horticultural regions of Spain. *Plant Dis.* 93, 180-184.
- Robertson L, García-Álvarez A, Arcos SC, Díez-Rojo MA, Mansilla JP, Sanz R, Martínez C, Escuer M, Castresana L, Notario A, Bello A, Arias M. 2008. Potencial insect vectors of *Bursaphelenchus* spp. (Nematoda: Parasitaphelenchidae). In: M Motta, P Vieira (Eds). **Pine Wilt Disease: a Worldwide Disease Threat to Forest Ecosystems**, 221-233.
- Robertson L, López-Pérez JA, Bello A, Díez-Rojo MA, Escuer M, Piedra Buena A, Ros C, Martínez C. 2006. Characterization of *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. hapla* populations from Spain and Uruguay on resistant pepper (*Capsicum annum* L.) cultivars. *Crop Prot.* 25, 440- 445.
- Rodríguez R. 2000. Tendencias actuales para tecnologías sostenibles. Simposio sobre cultivos protegidos en climas de invernadero templado. *Horticultura* 145, 38-46.
- Rodríguez-Kábana R. 1986. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. *J. Nematol.* 18, 129-135.
- Rodríguez-Kábana R. 1996. Alternatives to MB soil fumigation. In: A Bello, JA González, M Arias, R Rodríguez-Kábana (Eds). **Alternatives to MB for the Southern European Countries**. Gráficas Papallona S.C.V, Valencia, 17-34.
- Rodríguez-Kábana R, Canullo GH. 1992. Cropping systems for the management of phytonematodes. *Phytoparasitica* 20, 211-224.

- Rodríguez Molina C. 1996. **Ensayo de Caracterización de Suelos Agrícolas y Forestales de Extremadura Tomando como Indicadores a *Fusarium Link* y *Pythium Pringsheim*: la Representación del Muestreo.** Tesis Doctoral, ETSI Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, 209 pp.
- Rojas MT, Marbán-Mendoza N. 1999. *Pasteuria penetrans* y parasitismo en *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne arabicida*. *Nematropica* 29, 233-240.
- Romero E, Zurera C, Porras M, Barrau C, Romero I. 2008. Evaluación del potencial biofumigante de *Brassica* spp. para el control de *Phytophthora cactorum* y *Verticillium dahliae*. *XIV Congreso de la SEF*, 15-19 sept. 2008, Lugo, 365 p.
- Romero M.D. 1982. Characterization of *Heterodera avenae* in Spain. *EPPO Bull.* 12, 345-347.
- Ros C, Guerrero MM, Lacasa A, Guirao P, González A, Bello A, López-Pérez JA, Martínez MA. 2004. El injerto en pimiento. Comportamiento de patrones frente a hongos y nematodos. Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. *II Jornadas sobre Alternativas Viables al Bromuro de Metilo en Pimiento de Invernadero, Serie: Jornadas y Congresos*, 16, Región de Murcia, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, 279-311.
- Ros C, Guerrero MM, Lacasa CM, Martínez V, Cano A, Martínez MC, González A, Lacasa A. 2008. Control de nematodos en cultivos de pimiento mediante biosolarización e injerto. *XIV Congreso de la SEF*, 15-19 sept. 2008, Lugo, 381 p.
- Ros M, Pascual JA, García C, Hernández T, Guerrero MM, Lacasa A, Fernández P, Ros C, Guirao P. 2002. Efectos de la biofumigación con solarización sobre las propiedades de los suelos para cultivos de pimiento en agricultura ecológica. *V Congreso de la SEAE. I Congreso Iberoamericano de Agroecología*. Gijón, Asturias-España, 16-21 sept. 2002, 1021 p.
- Roubtsova T, López-Pérez JA, Edwards S, Ploeg AT. 2007. Effect of broccoli (*Brassica oleracea*) tissue, incorporated at different depths in a soil column, on *Meloidogyne incognita*. *J. Nematol.* 39, 111-117.
- Rüdel M. 1986. Grapevine damage induced by particular virus-vector combinations. *Phytopathol. medit.* 24, 183-185.
- Rüdel M, Alebrand M, Altamayer B. 1983. Investigations of the use of ELISA-test to detect different grape viruses. *Wein-Wiss* 38, 177-185.
- Runia W. 1983. A recent development in steam sterilisation. *Acta Hort.* 152, 195-199.
- Runia W, Greenberger A. 2004. Dutch approach on alternatives to MB including a new development: hot air treatment. *In: T Batchelor, F Alfarroba. (Eds). Proceedings of Fifth International Conference on Alternatives to MB*, Lisboa, Portugal, 27-30 septiembre. European Commission, Brussels, Belgium, 183-186.
- Ryder MH, Stephens PM, Bowen GD. 1994. Improving plant productivity with rhizosphere bacteria. *Proceedings Third International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*, 7-11 May, 1994. CSIRO Division of Soils, Glen Osmond, South Australia, 288 pp.

- Sacristán G, López-Robles DJ, Reguera-Useros JI, González-Garcedo S. 2004. Biofumigación y control microbiológico contra el “Damping-Off” en remolacha azucarera causado por *Rhizoctonia solani*. XII Congreso de la SEF. Lloret de Mar, Girona, 26 sept. -1 oct. 2004, 313 p.
- Sahebani N, Hadavi N. 2008. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2016-2020.
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn G.T, Mullis K.B, Erlich H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239, 487-491.
- Sakai H, Shiraishi T, Hagiwara H, Takehara T, Nakayama H, Saitoh H, Urushibara T, Tadenuma M. 1998. Control of monosporascus root rot of watermelon by hot water injection and chemicals. *Proceedings of the Kanto-Tosan Plant Protection Society* 45, 77-79.
- Sánchez A, Bello A. 1984. Valoración y estudio de los problemas fitonematológicos en la provincia de Toledo. In: **Estudio Agrobiológico de la Provincia de Toledo**. Instituto Provincial de Investigación y Estudios Toledanos (Eds). Toledo, 325-358.
- Santos M, Boix A, Diáñez F, Martínez RE, Gámez I, Cara M de, Blanco R, Tello JC. 2004. Papel biofumigante de los restos de cosecha de plantas hortícolas sobre *Phytophthora capsici*. XII congreso de la SEF. Lloret de Mar, Girona, 26 sept.-1 oct., 314 p.
- 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 2008, Bullas, Murcia, 90 p.
- Santos M, Vicente N, Diáñez F, Cara M de, Tello J.C. 2007. Vinazas y hongos del suelo. *Agroecología* 2, 39-45.
- Sanz R, Escuer M, López-Pérez JA. 1998. Alternatives to methyl bromide for root-knot nematode control in cucurbits. In: A Bello, JA González, M Arias, R Rodríguez-Kábana (Eds). **Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries**. CE DG XI-CSIC, Valencia, 73-84.
- Sasanelli N, Coiro M, D’Addabbo T, Lemos RJ, Ridolfi M, Lamberti F. 1999. Reaction of an olive cultivar and an olive rootstock to *Xiphinema index*. *Nematol. medit.* 27, 253-256.
- Schneider RW (Ed.). 1982. **Suppressive Soils and Plant Disease**. The American Phytopathological Society. St. Paul, MN, 88 pp.
- Schneider S, Roskopf E, Leesch J, Chellemi D, Bull C, Mazzola M. 2003. United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service Research on alternatives to MB: pre-plant and post-harvest. *Pest Management Science* 59, 814-826.
- Schneider S, Trout T, Browne G, Ajwa H, Sims J. 2004. Vineyard replant. Performance of MB alternatives over time. *2004 Annual International Research Conference on MB Alternatives and Emissions Reductions*, 31 octubre-3 noviembre 2004, Orlando, Florida, EEUU, 8.1-8.5.

- Scotto la Massese C, Minot TC, Voisin R, Castaing LRM, Fabre A. 1988. Relationship between soil type, previous crop and age of plantation on the composition and the distribution of the nematofauna associated with vineyards of the south-east of France. *Act. Oecol, Oecol. Aplic.* 9, 137.
- Segura JM, Cara M de, Diáñez F, Reyes JM, García-Gámez I, Martínez R, Santos M, Boix A, Tello J. 2004. Evaluación de la biosolarización con restos de cosecha en un cultivo de tomate raf en un abrigo de malla en el Campillo de Gata (Níjar, Almería). *VI Congreso SEAE*, 27 sept.-2 oct. 2004, Almería, 625-633.
- Semblat JP, Bongiovanni M, Wajnberg E, Dalmaso A, Abad P, Castagnone-Sereno P. 2000. Virulence and molecular diversity of partenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. *Heredity* 84, 81-89.
- Semblat JP, Castagnone-Sereno P. 2001. Lack of correlation between (a)virulence and phylogenetic relationships in root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Genetics, Selection, Evolution* 33 (Supplement 1), S45-S57
- Semblat JP, Rosso MN, Hussey R.S, Abad P, Castagnone-Sereno P. 2001. Molecular cloning of a cDNA encoding an amphid-secreted putative avirulence protein from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 14, 72-79.
- Sevilla Guzmán E. 2006. **De la Sociología Rural a la Agroecología**. Edit. Icaria, Junta de Andalucía, Barcelons, 255 pp.
- Shanmuganathan N, Fletcher G. 1982. Enzyme-linked immunosorbent Assay to detect fanleaf virus in grapevines grown in containers. *Plant Dis.* 66, 704-707.
- Shinmura A. 2004. Principle and effect of soil sterilization method by reducing redox potential of soil. *PSJ Soilborne Disease Workshop Report* 22, 2-12.
- Siddiqui MAM, Mashkooor A. 1998. Control of plant parasitic nematodes by *Tagetes tenuifolia*. *Rev. nématol.* 11, 369-370.
- Siddiqui MR. 1986. *Xiphinema index*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematode set 3, n°.45, 4 pp.
- Siddiqui MR. 2000. **Tylenchida Parasites of Plants and Insects**. CABI, UK, 833 pp.
- Siddiqui ZA, Mahmood I, Ansari M.A. 1995. Effect of different inoculum levels of *Meloidogyne incognita* on the growth of pea in the presence and absence of *Rhizobium*. *Nematol. mediterr.* 23, 249-251.
- Sikken K. 2003. Suffocating fungi and nematodes with biomass and foil. *Oogst* 16, 34-35.
- Sikora RA, Pocasangre L, Zum Felde A, Niere B, Vu TT, Dababat AA. 2008. Mutualistic endophytic fungi and in-planta suppressiveness to plant parasitic nematodes. *Biol. Control* 46, 15-23.
- Soltani N, Conn KL, Abbasi PA, Lazarovits G. 2002. Reduction of potato scab and *Verticilium* wilt with ammonium lignosulfonate soil amendment in four Ontario potato fields. *Can. J. Plant Pathol.* 24, 332-339.

- Spiegel Y, Netzer D. 1984. Effect of nitrogen form at various levels of potassium, on the *Meloidogyne-Fusarium* wilt complex in muskmelon. *Plant and Soil* 81, 85-92.
- Stapleton J.J. 2000. Soil solarization in various agricultural production systems. *Crop Prot.* 19, 837-841.
- Stapleton J, Vay J De. 1984. Thermal components of soil solarization as related to changes in soil and root microflora and increased plant growth response. *Phytopathology* 74, 255-259.
- Stevens C, Khan VA, Rodríguez-Kábana R, Ploper LD, Backman PA, Collins DJ, Brown JE, Wilson MA, Igwegbe ECK. 2003. Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soilborne diseases of vegetables. *Plant and Soil* 253, 493-506.
- Stinson AM, Zidack NK, Strobel GA, Jacobsen BJ. 2003. Mycofumigation with *Muscodora albus* and *Muscodora roseus* for control of seedling diseases of sugar beet and Verticillium wilt of eggplant. *Plant Dis.* 87, 1349-1354.
- Stirling GR (Edt.) 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and prospects. CAB International, Wallingford, Oxon, 282 pp.
- Stirling GR, Dullahide SR, Nikulin A. 1995. Management of lesion nematode (*Pratylenchus jordannensis*) on replant apple trees. *Aust. J. Exp. Agr.* 35, 247-258.
- Stover RH. 1979. Flooding of soil for disease control. In: D Mulder (Ed.). **Soil Disinfestation**. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 19-28.
- Strobel GA, Dirske E, Sears J, Markworth C. 2001. Volatile antimicrobials from *Muscodora albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology* 147, 2943-2950.
- Sturhan D. 1985. Species, subspecies, race and pathotype problems in nematodes. *Bulletin OEPP* 15, 139-144.
- Subbarao KV. 2001. Rotation with broccoli: a sustainable alternative to soil chemical fumigants. Sustainable Agriculture Research and Education SARE research Projects Western Region. Study number SW99-099. 3 pp. http://www.sare.org/reporting/report_viewer.asp?pn=SW99-009&ry=2001&rf=1
- Suchitra Ahlawat, Ganguly AK. 1999. Enzymatic analysis of four races of *Meloidogyne incognita*. In: SC Dhawan, KK Kaushal (Eds). **Proceedings of National Symposium on Rational Approaches in Nematode Management for Sustainable Agriculture**, Anand, India, 23-25 November 1998. Nematological Society of India, New Delhi, 139-142.
- Suslow TV. 1982. Role of root-colonizing bacteria on plant growth. In: MS Mount, GH Lacey (Eds). *Phytopathogenic prokaryotes*. New York, Academic Press, 187-223.
- Takeuchi T. 2004. Effect of sterilization by soil reduction on soil-borne diseases in Chiba prefecture. *PSJ Soilborne Disease Workshop Report* 22, 13-21.
- Talavera M, Verdejo-Lucas S, Ornat C, Torres J, Vela MD, Macias FJ, Cortada L, Arias DJ, Valero J, Sorribas FJ. 2009. Crop rotations with *Mi* gene resistant and susceptible tomato cultivars for management of root-knot nematodes in plastic houses. *Crop Prot.* 28 662-667.

- Tamietti G, Valentino D. 2000. Effectiveness of soil solarisation against soil borne plant pathogens and weeds in Piedmont (Northern Italy). *In: ML Gullino, J Katan, A Matta (Eds). Fifth International Symposium on Chemical and Non chemical Soil and Substrate Disinfestation. Acta Hortic.* 532, 151-156.
- Tanda AS, Atwal AS, Bajaj YPS. 1989. *In vitro* inhibition of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by sesame root exudates and its amino acids. *Nematologica* 35, 115-124.
- Tanne E. 1980. The use of ELISA for the detection of some NEPO-viruses in grapevines. *Proc. 7th Int. C. Viruses and vectors of Grapevines.* Niagara Falls, 293-296.
- Taylor AL, Sasser JM. 1978. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species).** Raleigh, North Carolina, North Carolina State University Graphics, 111 pp.
- Taylor CE, Brown DJF. 1997. **Nematode Vectors of Plant Viruses.** CAB International, Wallingford, UK, 296 pp.
- Tello J. 2000. Tomato production in Spain without methyl bromide. *Regional workshop on methyl bromide alternatives for North Africa and Southern European countries*, UNEP, Ministerio del Ambiente de Italia y GTZ, July 1998, Roma, Italia, 161-172.
- Tello J, Bello A. 1994. El suelo como ente vivo. La rizosfera, los hongos y los nematodos fitopatógenos en la "memoria del suelo". *I Congreso SEAE*, 28-29 sept. 1994, Toledo, 506-516.
- Tello J, Lacasa A. 1997. Problemática fitosanitaria del suelo en el cultivo del pimiento en el campo de Cartagena. *In: A López García, JA Mora Gonzalo (Eds). Posibilidad de Alternativas Viables al BM en Pimiento de Invernadero*, Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua, Murcia, 11-18.
- Tenuta M. 2001. **Nitrogen Transformation Products from Nitrogenous Amendments and the Soil Properties Affecting their Toxicity to *Verticillium dahliae* Kleb.** Ph.D. diss. The University of Western Ontario, London, ON, Canada.
- Tenuta M, Conn KL, Lazarovits G. 2002. Volatile fatty acids in liquid swine manure can kill microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 92, 548-552.
- Tenuta M, Lazarovits G. 2002a. Ammonia and nitrous acid from nitrogenous amendments kill the microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 92, 255-264.
- Tenuta M, Lazarovits G. 2002b. Identification of specific soil properties that affect the accumulation and toxicity of ammonia to *Verticillium dahliae*. *Can. J. Plant Pathol.* 24, 219-229.
- Tenuta M, Lazarovits G. 2004. Soil properties associated with the variable effectiveness of meat and bone meal to kill microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Appl. Soil Ecol.*, 25, 219-236.

- Thomas W. 1997. Impacto ambiental de bromuro de metilo. *In*: A Bello, JA González, J Pérez Parra, J Tello (Eds). **Alternativas al Bromuro de Metilo en Agricultura**. Junta de Andalucía, Sevilla, España, 13-18.
- Thorne G. 1927. The life history, habits and economic importance of some mononchs. *J. Agr. Res. (Washington)* 34, 265-286.
- Tjamos EC. 1998. Solarization as an alternative to MB for the Southern European countries. *In*: A Bello, JA González, M Arias, R Rodríguez-Kábana (Eds). **Alternatives to methyl bromide for the Southern European countries**. CE DG XI-CSIC, Valencia, 127-150.
- Tjamos EC, Niklis N. 1990. Synergism between soil solarisation and *Trichoderma* preparations in controlling fusarium wilt of beans in Greece. *8th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, 31 Oct.-3 Nov. 1990, Agadir, Marruecos, 145 p.
- Topp E, Millar S, Bork H, Welsh M. 1998. Effects of marigold (*Tagetes* sp.) roots on soil microorganisms. *Biol. Fert. Soils* 27, 149-154.
- Torres JM, Díez-Rojo MA, Robertson L, López-Pérez JA, Cara M de, Tello J, Bello A. 2007. **Nematodos Fitoparásitos del Género Meloidogyne Goeldi, 1892 y su Manejo Ecológico en Cultivos Enarenados de Almería**. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, 203 pp.
- Trudgill DL. 1991. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29, 167-192.
- Trudgill DL. 1997. Parthenogenetic root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): how can these biotrophic endoparasites have such enormous host range? *Plant Pathol.* 46, 26-32.
- Trudgill DL, Brown DJF, McNamara DG. 1983. Methods and criteria for assessing the transmission of plant viruses by longidorid nematodes. *Rev. nématol.* 6, 133-141.
- Tsao PH, Oster JJ. 1981. Relation of ammonia and nitrous acid to suppression of *Phytophthora* in nitrogenous organic substances. *Phytopathology* 71, 53-59.
- Tzortzakakis EA, Blok VC, Phillips MS, Trudgill DL. 1999. Variation in root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in Crete in relation to control with resistant tomato and pepper. *Nematology* 1, 409-506.
- Tzortzakakis EA, Gowen SR. 1994. Evaluation of *Pasteuria penetrans* alone and in combination with Oxamyl, plant resistance and solarisation for control of *Meloidogyne* spp. on vegetables grown in greenhouses in Crete. *Crop Prot.* 13, 455-462.
- Urbano P. 1992. **Tratado de Fitotecnia General**. 2ª Edición. Edit. Mundi Prensa, 895 pp.
- Urbano P. 2008. **Fitotecnia. Ingeniería de la Producción Vegetal**. 2ª Edición. Edit. Mundi-Prensa, 528 pp.
- Urbano P, Moro R. 1992. **Sistemas Agrícolas con Rotaciones y Alternativas de Cultivos**. Edit. Mundi-Prensa, Madrid, 134 pp.
- Vandermeer J. 1989. **The Ecology of Intercropping**. Cambridge, UK Cambridge Univ. Press, 24 pp.

- Varés F. 1998. Status of M B alternatives in Spain. *In*: A Bello, JA González, M Arias, R Rodríguez-Kábana (Eds). **Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries**. CE DG XI-CSIC, Valencia, 341-360.
- Verdejo-Lucas S, Cortada L, Sorribas FJ, Ornat C. 2008. Selection of virulent population of *Meloidogyne javanica* by repeated cultivation of *Mi* tomato rootstocks in the field. *Proceedings of Fifth International Congress of Nematology*, 13-18 July 2008, Brisbane, Australia.
- Verdejo-Lucas S, Sorribas FJ. 2008. Resistance response of the tomato rootstock SC 6301 to *Meloidogyne javanica* in a plastic house. *Eur. J. Plant Pathol.* 121, 103-107.
- Verhagen C, Lebbink G, Bloem J. 1996. Enhanced biodegradation of the nematicides 1,3-dichloropropene and methyl isothiocyanate in a variety of soils. *Soil Biol. Biochem.* 28, 1753-1756.
- Vicente M, Fernández-Rebollo P, Trapero A, Sánchez ME. 2008. Eficacia in Vitro de biofumigantes vegetales y enmiendas orgánicas en el control de *Phytophthora cinnamomi*. XVI Congreso de la SEF, 15-19 de sept. 2008, Lugo, P 222, 364 p.
- Vilaseca JC. 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, 478 pp.
- Villamar LP, Melero JM, Basallote MJ, Prados AM. 2008. Efecto de los aportes de gallinaza al suelo y de las temperaturas de incubación en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. XIV Congreso SEF, 15-19 sept. 2009, Lugo, 368 p.
- Von der Weid JM. 1994. **Agroecología y Agricultura Sustentable. Agroecología y Desarrollo** (CLADES, Chile) 7, 9-28.
- Vuittenez AJ. 1970. Fanleaf of grapevine. *In*: Frazier (Ed.) **Virus Diseases of Small Fruits and Grapevines**. University of California, 217-228.
- Wachira PM, Kimenju JW, Okoth SA, Mibey RK. 2009. Stimulation of nematode-destroying fungi by organic amendments applied in management of plant parasitic nematode. *Asian J. Plant Sci.* 8, 153-159.
- Walter B, Vuittenez AJ, Kuszala J, Stocky G, Burckard J, van Regenmortel H. 1983. Serological detection of fanleaf virus of grapes by ELISA. *Agr. Sc. Prod. Veg. Environ.* 4, 527-534.
- Walters D, Walsh D, Newton A, Lyon G. 2005. Induced resistance for plant disease control: Maximizing the efficacy of resistance elicitors. *Phytopathology* 95, 1368-1373.
- Watanabe H. 2006. Alternative technology to fumigation with methyl bromide in Gifu prefecture. *Proceedings of Vegetable and Tea Science* 3, 43-47.
- Weischer B. 1974. *Xiphinema*-Arten. *Europäischer Weinberge* 21, 61-76.
- Weischer B. 1975. Ecology of *Xiphinema* and *Longidorus*. *In*: F Lamberti, CE Taylor, JW Seinhorst (Eds). **Nematode Vectors of Plant Viruses**. Plenum Press, New York, 291-307.
- Weller DM. 2007. *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: looking back over 30 years. *Phytopathology* 92, 250-256.

- Westerdahl B, Giraud D, Riddle L, Anderson C, Pryor A. 2003. Managing nematodes in nursery stock with hot water and ozone. *Annual International Research Conference on MB Alternatives and Emissions Reductions*. 3-6 Nov. 2003, San Diego, California, EEUU, 117.1.
- Wishart J, Phillips MS, Blok VC. 2002. Ribosomal intergenic spacer: a polimerase chain reaction diagnostic for *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax* and *M. hapla*. *Phytopathology* 92, 884-892.
- Whitehead AG. 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematoidea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. *Trans. of the Zoological Society of London* 31, 263-401.
- Wiersum KF. (Ed.). 1981. **Viewpoints on Agroforestry**. The Netherlands: Agricultural University, Wageningen, 185 pp.
- Wilhelm S. 1951. Effect of various soil amendments on the inoculum potential of the verticillium wilt fungus. *Phytopathology* 41, 684-690.
- Williamson VM, Gleason CA. 2003. Plant-nematode interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 6, 327-333.
- Winfield AL, Cooke DA. 1975. The ecology of *Trichodorus* In: F Lamberti, CE Taylor, JW Seinhorst (Eds). **Nematode Vectors of Plant Viruses**. Plenum Press, London, 309-341.
- Worapong J, Strobel GA, Ford E, Li JY, Baird G, Hess WM. 2001. *Muscodor albus* anam. gen. et sp. nov, an endophyte from *Cinnamomum zeylanicum*. *Mycotaxon* 79, 67-69.
- Xiao J, Zhu J, Chen S, Ruan W, Miller C. 2007. A novel use of anaerobically digested liquid swine manure to potentially control soybean cyst nematode. *J. Environ. Sci. Health* 42, 749-757.
- Xu J, Narabu T, Mizukubo T, Hibi Y. 2001. A molecular marker correlated with selected virulence against the tomato resistance gene *Mi* in *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*. *Phytopathology* 91, 377-382.
- Yagi K, Williams J, Wang N, Cicerone R. 1993. Agricultural soil fumigation as a source of atmospheric MB. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 8420-8423.
- Yao LX, Li GL, Tu SH, Sulewski G, He ZH. 2007. Salinity of animal manure and potential risk of secondary soil salinization through successive manure application. *Sci. Total Environ.* 383, 106-114.
- Yélamos JA, Castillo P, Diánez F, Villaescusa J, Santos M, Chebâni M, Blanco R, Lacasa A, Tello J.C. 2002. Efectos del bromuro de metilo y la biofumigación con solarización sobre la microbiota fúngica, actinomicética y bacteriana de suelos cultivados con pimiento en Murcia. *V Congreso SEAE*, 16-21 sept., Gijón, Asturias, 1023-1025.
- Yu S, Wang Y, Hu X, Bai W. 1998. RAPD analisis of most common *Meloidogyne* spp. *Acta Phytopathologica Sinica* 28, 259-265.
- Zanón MJ. 2009. **Efecto de la Biofumigación y Biosolarización en el Control de Bacterias Fitopatógenas**. Tesis Doctoral, Escuela Universitaria de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politecnica de Valencia, 301 pp.

- Zanón MJ, Vilaseca JC, Rodríguez JM, Heliodoro JS, Jordá C. 2004. La biofumigación como alternativa ecológica para el control de virus y bacterias fitopatógenas. *VI Congreso SEAE*, 27 sept.-2 oct. 2004, Almería, 691-699.
- Zasada IA, Tenuta M. 2004. Chemical-mediated toxicity of N-Viro Soil to *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita*. *J. Nematol.* 36, 297-302.
- Zhou XG, Everts KL. 2004. Suppression of fusarium wilt of watermelon by soil amendment with hairy vetch. *Plant Dis.* 88, 1357-1365.
- Ziljstra C, Donkers-Venne DTHM, Fargette M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterised amplified region (SCAR) based PCR assays. *Nematology* 2, 847-853.

