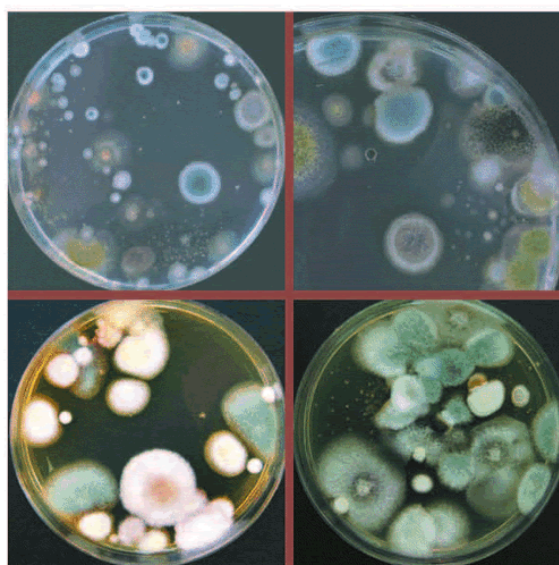


Ecología de la microbiota fúngica de los suelos de los invernaderos de pimiento y su interés agronómico

M^a Ángeles Martínez Francés
Alfredo Lacasa Plasencia
Julio C. Tello Marquina

Ecología de la microbiota fúngica de los suelos de los invernaderos de pimiento y su interés agronómico



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE
Y MEDIO RURAL Y MARINO

**ECOLOGÍA DE LA
MICROBIOTA FÚNGICA DE
LOS SUELOS
DE LOS INVERNADEROS
DE PIMIENTO Y SU
INTERÉS AGRONÓMICO**

Este trabajo ha sido realizado gracias a la concesión de la beca predoctoral INIA

M^a Ángeles Martínez Francés. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), Dpto. de Biotecnología y Protección de cultivos. C/ Mayor, s/n. 30150. La Alberca (Murcia).

Alfredo Lacasa Plasencia. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), Dpto. de Biotecnología y Protección de cultivos. C/ Mayor, s/n. 30150. La Alberca (Murcia).

Julio C. Tello Marquina. Universidad de Almería. Dpto. de Producción Vegetal. 04120 La Cañada de San Urbano (Almería).



MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO

Secretaría General Técnica: Alicia Camacho García. **Subdirector General de Información al Ciudadano, Documentación y Publicaciones:** José Abellán Gómez. **Director del Centro de Publicaciones:** Juan Carlos Palacios López. **Jefa de Servicio de Producción y Edición:** M.^a Dolores López Hernández.

Edita

© Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino
Secretaría General Técnica
Centro de Publicaciones

Distribución y venta:

P^o de la Infanta Isabel, 1
Teléfono: 91 347 55 41
Fax: 91 347 57 22

Maquetación, impresión y encuadernación:

V.A. Impresores, S.A.

Plaza San Juan de la Cruz, s/n

Teléfono: 91 597 61 87

Fax: 91 597 61 86

NIPO: 770-09-286-0

ISBN: 978-84-491-0987-4

Depósito Legal: M-53135-2009

Catálogo General de Publicaciones Oficiales:

<http://www.060.es>

(servicios en línea/oficina virtual/Publicaciones)

Tienda virtual: www.marm.es
centropublicaciones@marm.es

Datos técnicos: Formato: 17 x 24 cm. Caja de texto: 13 x 19,5 cm. Composición: una columna. Tipografía: Akzidenz Grotesk BE Ligth a cuerpos 11 y 12,6. Papel: Interior en estucado con certificación FSC (Material de Crédito) de 115 g. Cubierta en Symbol Card de 300 g. con certificación FSC (Material de Crédito). Tintas: 4/4. Encuadernación: Rústica, cosido con hilo vegetal.

El certificado FSC (Forest Stewardship Council) asegura que la fibra virgen utilizada en la fabricación de este papel procede de masas certificadas con las máximas garantías de una gestión forestal social y ambientalmente responsable y de otras fuentes controladas. Consumiendo papel FSC promovemos la conservación de los bosques del planeta y su uso responsable.



Preámbulo

PREÁMBULO

El lector interesado tiene en sus manos un libro que presenta un modelo sobre el comportamiento de los hongos microscópicos del suelo, cuando son sometidos a la actividad agrícola. Actividad que se ha simplificado hasta reducirla a la desinfección. Sabido es que la desinfección del suelo en horticultura intensiva se ha convertido en una práctica agrícola más. Haya o no una justificación para ello. Ciertamente que los agricultores realizan esta labor —costosa, por otro lado, no sólo en su vertiente económica— por alguna razón: el incremento de producción. Un ejemplo lo brinda el trabajo contenido en esta obra para un modelo muy concreto: monocultivo de pimiento bajo invernadero, desde hace más de 25 años, en el Campo de Cartagena de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Modelo que pone de manifiesto que no siempre se eleva el rendimiento de la cosecha y que, además, puede estar la desinfección enmascarando un fenómeno, conocido desde antiguo, denominado “fatiga del suelo” o “tierras cansadas”. Denominaciones que ponen en evidencia la importancia de la fracción viva del suelo (hongos, bacterias, insectos, ácaros, gusanos y un largo etcétera) en el mantenimiento de la fertilidad, hasta el punto de poder afirmar que un suelo completamente estéril es un suelo improductivo. De esta realidad no se libran los sustratos inertes o no que se utilizan para cultivos sin suelo.

Desde esta óptica, se ha escrito que algunos desinfectantes del suelo son “biocidas totales”, para significar que esterilizan completamente. Nada más lejos de la realidad, como se pone de manifiesto en el trabajo experimental que se expone en las páginas de este libro. Y habría que apresurarse a añadir la fortuna de que las cosas hayan sucedido así.

La literatura especializada no abunda en trabajos sobre la microbiota fúngica que habita un suelo. Son más frecuentes las investigaciones sobre la densidad del inóculo, y sus variaciones, de un hongo fitopatógeno. Estudios que en numerosas ocasiones —la mayoría— pretenden hacer válido el aserto: a mayor densidad del patógeno en el suelo mayor severidad de la enfermedad que ocasiona. Se justificaría así que una desinfección que disminuya la densidad de inóculo mermaría la expresión de la enfermedad. Esta forma de razonar simplifica extraordinariamente el sistema y aspectos como la capacidad saprofitaria del parásito —su saprofitismo— no es tenida en cuenta, cuando puede influir decisivamente en su habilidad para parasitar. O, las propiedades intrínsecas del mismo microorganismo cuando se ha alimentado de un tipo u otro de materia, funda-

mento que sostendría el efecto benéfico de la antigua recomendación de rotar el cultivo para disminuir la acción parasitaria del microorganismo que origina la enfermedad. O, el efecto de las condiciones del “ambiente suelo” —tan complejo y tan contrapuesto de un tiempo a otro— en la expresión de la enfermedad. O, la “capacidad de acogida” de un suelo para admitir entre sus habitantes a un extraño. Esta “capacidad” ha sido, desde hace años olvidada, magnificando las propiedades “antagonistas” de muchos de los habitantes del “medio telúrico”. Evaluadas “in vitro” y lanzadas al mercado como si lo medido en condiciones de laboratorio debiera cumplirse en el suelo agrícola. Sin olvidar la “explotación” a la que han sido sometidos estos “agentes de control biológico”, para extraer sus metabolitos como fungicidas y bactericidas, o, incluso utilizar los genes que regulan la producción de esas sustancias, para mediante las técnicas de ingeniería genética, adicionarlos al genoma de las plantas. Piense, en este punto, sobre las plantas trasgénicas de maíz resistentes a los insectos taladradores del tallo, cuya resistencia procede del gen de una bacteria del suelo denominada *Bacillus thuringiensis*. Sin entrar en otras consideraciones —evaluaciones, registros, principio de precaución, etc— esta breve enumeración conduce a especular sobre la inmensa riqueza microbiológica del suelo, cuya complejidad ha sido no suficientemente estudiada, pero no por ello ha dejado —y seguirá siendo— utilizada de manera lineal, si se razona comparativamente.

Una de las aportaciones más interesantes de los estudios con los microorganismos edáficos ha sido la resistencia inducida en las plantas. Es decir, microorganismos no causantes de enfermedad permiten que las plantas expresen una resistencia a las plagas y enfermedades que en su ausencia no se manifiesta. Han sido numerosas las bacterias telúricas las que se han estudiado desde esta óptica (*Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* y otros géneros), pero siempre separadas del “entorno suelo”. Cuando estas individualidades se han aplicado a las semillas o a las plantas, en las diferentes fases de un cultivo, se ha apreciado una ventaja en el crecimiento de las plántulas, pero el control de las enfermedades o plagas en la realidad del campo no ha tenido, ni aproximadamente, una respuesta suficiente.

Son escasos, en contraposición, los estudios de la microbiota no patógena de un suelo tratando de esclarecer su papel. ¿No son parásitos? ¿Son parásitos débiles que no llegan a expresar su perjuicio con la magnitud de los que consideramos agentes causales de enfermedades? ¿Qué les relaciona con los vegetales, puesto que aquellos hongos y bacterias que se aíslan del suelo hortícola no se diferencian en su composición de los que permiten los medios de laboratorio aislarlos de la rizoplana? Es más, el contenido de las páginas que siguen a este preámbulo pone en evidencia la imposibilidad de separar los habitantes de la rizosfera de los de la rizoplana y éstos, a su vez, de los del suelo desnudo, esté humedecido o seco. La razón para que este hecho —fundamental en la ecología microbiana del suelo— ocurra puede ser debido a las técnicas analíticas disponibles y al modelo estudiado: monocultivo de pimiento con una duración anual en torno

a 9 meses. Casi podría decirse que todo el suelo del invernadero es una rizoplasma, ya que las raíces, incluso las plantas, quedan en el suelo de un cultivo a otro.

En las reflexiones precedentes se ha evocado la imperfección de las técnicas analíticas disponibles para la microbiología del suelo. La más reciente lleva utilizándose más de medio siglo. ¿por qué tanta duración pese a su inexactitud? Carecemos de respuesta para tal pregunta. Ciertamente que han habido intentos muy sugerentes para paliar algunas deficiencias, tal es el caso de los trabajos de BOUHOT —las referencias de los autores para el lector interesado aparecen al final del libro— sobre el “potencial infeccioso” de los suelos contaminados con *Pythium* que no tuvieron el eco esperado. Recientemente, DE CARA GARCÍA, ha retomado el tema para evaluar los agentes causales del colapso del melón, poniendo a punto una fitopatometría de suelos, ya utilizada hace más de cinco decenios pero sin continuidad, y que entronca con los trabajos del “potencial infeccioso del suelo”. En esencia, estas técnicas no cuantifican por separado las diferentes fracciones microbianas del suelo, valiéndose para ello de medios y procesos más o menos selectivos. Estudian las fracciones microbianas y su relación con las plantas que se utilizan a modo de “trampas”. Muchas observaciones serán necesarias para evaluar la representatividad de estas técnicas. Esperemos que no vuelvan a quedar relegadas en el rincón de cualquier anaquel.

¿Dónde residen las debilidades de las técnicas analíticas utilizadas en este trabajo? Es de todo punto necesario tomar aquí los datos aportados por RODRÍGUEZ MOLINA sobre la microbiología de suelos incultos y cultivados. La autora trata de ajustar la técnica analítica usada para los hongos del género *Fusarium* aislados del suelo desde varias vertientes: *variabilidad de los resultados dependiendo de la dilución de la muestra; variabilidad de los resultados en función del tiempo de almacenamiento de la muestra; precisión, repetibilidad y reproducibilidad del método analítico; y, variabilidad de las poblaciones de Fusarium en el suelo y representatividad del muestreo.*

En este trabajo se han analizado decenas de muestras de suelo bajo diferentes condiciones de cultivo. Un primer problema —y no pequeño!— se planteó a la hora de decidir qué muestra tomar para cada situación. En este punto, en el trabajo de RODRÍGUEZ MOLINA se analiza, intensamente, una calicata de 1×1×0,80 m. En las caras se marcaron cuatro horizontes de 10 cm de profundidad cada uno. En una de las caras se marcaron, adicionalmente, cuatro horizontes más hasta alcanzar una profundidad de 80 cm. En la línea media de cada horizonte se marcaron 10 puntos equidistantes entre sí 10 cm. De cada punto se tomó una muestra de tierra de 35-45 g con la humedad que tenía “in situ”. Los resultados no pudieron ser más elocuentes: “las conclusiones y generalizaciones a partir de los muestreos de suelo deber ser realizados con precaución, ya que el muestreo intenso de un espacio pequeño de suelo muestra que la variabilidad que existe en el medio es tal, que en realidad una muestra sólo se representa a sí misma”.

Con ser importante este resultado, todavía deberá ser ajustado, lo cual aportará la dimensión de la imprecisión analítica.

En ocasiones, la densidad de población en el suelo es tan elevada que la muestra deberá ser diluida. En esta ocasión se utilizó talco como diluyente. Se analizó una muestra utilizando la técnica de añadir el suelo directamente a un medio de cultivo selectivo para *Fusarium*, que estaba fundido a una temperatura entre 39 y 42° C. Las cantidades de suelo por placa de Petri (9 cm de diámetro) oscilaron entre 0,0123 y 0,0194 g, el número de colonias del hongo fue tan elevado que no permitieron su cómputo. Se diluyó la muestra en talco adoptando las siguientes proporciones: 1:5 (1 parte de suelo en 4 de talco), 1:10 y 1:15. Los resultados se presentan en la Tabla I).

Tabla I. Efecto de la dilución del suelo en talco, sobre el número de colonias (U.F.C) de *Fusarium* (tomado de RODRÍGUEZ MOLINA, 1996)

Dilución	U.F.C. g ⁻¹ suelo			
	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. roseum</i>	<i>Fusarium total</i>
1:0	8.872 ± 4.959 c	301 ± 200 d	1928 ± 1.002 c	11.101 ± 4.251 c
1:5	16.353 ± 10.981 ab	717 ± 292 b	2.237 ± 1.538 c	19.313 ± 11.702 b
1:10	16.694 ± 11.869 a	544 ± 442 c	4.531 ± 3.673 a	21.771 ± 14.342 a
1:15	15.776 ± 12.557 b	1.081 ± 736 a	3.486 ± 4.310 b	20.349 ± 16.381 b

Los valores (media ± desviación típica) en cada columna seguidas de la misma letra no difieren significativamente (p < 0,05). Análisis de la varianza seguido del Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos.

El ejemplo seleccionado ilustra sobre cómo la dilución en talco permite estimar densidades de población más elevadas en las muestras diluida que la misma sin diluir. Y, además, el efecto de la dilución varía en función de la especie de *Fusarium*.

A partir de la pregunta: ¿Cuánto tiempo deberá conservarse una muestra de suelo para que su alteración sea mínima? ¿Bajo qué condiciones deberá transcurrir el periodo de conservación? RODRÍGUEZ MOLINA, trabajando con 18 muestras de suelo recogidas tanto de campos cultivados con cerezo, espárrago, tabaco, hortalizas, como de suelos de pinar y dehesa, estudia la microbiota fusárica después de 0, 6, 12 y 18 meses de conservación en el ambiente del laboratorio. Los resultados pusieron en evidencia que: “la densidad de la población fusárica disminuye con el tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente. La velocidad de descenso varía según la muestra”.

Un ejemplo lo conforman 18 muestras, que durante 9 meses de conservación presentaron, en conjunto, las siguientes densidades de *Fusarium* (Tabla II)

Tabla II. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el número de U.F.C. g⁻¹ de suelo de *Fusarium* (tomado de RODRÍGUEZ MOLINA, 1996)

Tiempo de almacenamiento (meses)	U.F.C. g ⁻¹ suelo
0	9.979 ± 8.333 a
6	4.705 ± 4.194 b
9	983 ± 1.142 c

Los valores (media ± desviación típica) en cada columna seguidas de la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$). Test de Student-Newman-Keuls para los grupos homogéneos. Recalculado de $\sqrt{x * F = 2.965,46 * gL1 = 2 * gL2 = 162}$.

Cabe ahora abordar, sin por ello agotar las posibilidades, la **precisión, repetibilidad** y **reproducibilidad** del método analítico para los hongos del género *Fusarium* en el suelo. La repetibilidad se estima estudiando las diferencias entre los resultados de análisis sucesivos de la misma muestra y en las mismas condiciones: la misma técnica de análisis, el mismo analista, el mismo laboratorio, los mismo aparatos, y un corto intervalo de tiempo (8-10 días) entre los análisis sucesivos de la misma muestra. La reproducibilidad se estima estudiando las diferencias entre los resultados de análisis realizados sobre las mismas muestras y empleando la misma técnica de análisis, pero en condiciones diferentes: diferentes analistas, diferentes laboratorios, diferentes aparatos y momentos diferentes.

Para no agotar la paciencia del lector, contrastada si ha llegado hasta aquí, la repetición del análisis de la misma muestra (repetibilidad) se presenta en la Tabla III.

Tabla III. Efecto de la tanda de análisis, sobre el número estimado de U.F.C. g⁻¹ de suelo de *Fusarium* (tomado de RODRÍGUEZ MOLINA, 1996)

Grupo de muestras	Número de muestras	U.F.C. g ⁻¹ suelo	
		Análisis 1	Análisis 2
1	6	10.263 ± 3.059	15.213 ± 5.020
2	6	7.657 ± 2.534	6.020 ± 2.336
3	6	5.373 ± 1.200	8.245 ± 1.699

Los valores (media ± desviación típica) de los tres grupos de muestras difieren según la tanda de análisis. Test de Wilcoxon para muestras apareadas, $T = 2,20$ en los tres grupos; $p < 0,05$.

Es claro, por tanto, que existen diferencias significativas entre el primer y segundo análisis, aunque haya sido realizado por el mismo analista.

La reproducibilidad (misma muestra analizada bajo iguales condiciones, por dos analistas diferentes), se refleja en la Tabla IV.

Tabla IV. Efecto del analista sobre el número estimado de U.F.C. g⁻¹ de suelo de *Fusarium* (tomado de RODRÍGUEZ MOLINA, 1996)

Número de muestras	U.F.C. g ⁻¹ suelo	
	Análisis 1	Análisis 2
42	5.502 ± 3.506	8.299 ± 3.388

Los valores (media ± desviación típica) obtenidos por cada analista difieren significativamente. Test t para muestras apareadas, $t = -5,43$; ($p < 0,05$).

Después de comprobar lo que sucede con la repetibilidad no debería sorprender que el análisis de la misma muestra por dos analistas diferentes arroja-se resultados estadísticamente diferentes.

Parece, por tanto prudente, adoptar el criterio de valorar las tendencias de las poblaciones medidas mas que empeñarse en mantener como único criterio válido los valores numéricos absolutos.

Pues bien, teniendo en cuenta estas limitaciones se realizó el trabajo que se presenta en las páginas siguientes. Pese a esas limitaciones, la investigación ha conformado un **modelo** sobre el efecto de los diferentes tratamientos de desinfección (químicos y biológicos) aplicados en los suelos de los cultivos de pimiento bajo invernadero del Campo de Cartagena (Murcia). Es decir, sobre el efecto desinfectante, sobre su permanencia a lo largo del cultivo y sobre la microbiota fúngica que puebla estos suelos. Se han evidenciado aspectos como que ningún desinfectante hace desaparecer las poblaciones de hongos en el suelo. Ítem más, el comportamiento de un fumigante es diferente de un suelo a otro en lo concerniente a disminución de poblaciones microbianas. No se han apreciado diferencias entre tratamientos, sean químicos o biológicos, en lo que se refiere al efecto desinfectante. Es decir la aplicación de materia orgánica fresca con solarización se aproxima al efecto de los químicos más potentes cuando se evalúa las densidades de especies fúngicas. El modelo se perfecciona con la siguiente observación: cualquiera que haya sido el tratamiento la recolonización por hongos se produce de la misma manera, finalizando con las mismas poblaciones que las existentes antes de aplicar el tratamiento. Finalmente, el modelo ha permitido explorar el parasitismo de ciertos hongos como *Fusarium solani* y *Aspergillus sp*, los más abundantes en los suelos estudiados, que no son reconocidos como patógenos del pimiento.

Este aviso previo, acogido como preámbulo, tiene la intención de guiar a quien desee explorar el contenido, poniéndole en antecedentes para que su posible utilidad no le defraude.

Así lo deseamos.

M^a CARMEN RODRÍGUEZ MOLINA, M^a ÁNGELES MARTÍNEZ FRANCÉS,
ALFREDO LACASA PLASENCIA, JULIO CÉSAR TELLO MAQUINA

Índice

ÍNDICE

ÍNDICE DE MATERIAS

1. INTRODUCCIÓN GENERAL	23
PARTE I. EL MODELO DE ESTUDIO	23
1.1. El cultivo de pimiento en la Región de Murcia	25
1.1.1. Situación del cultivo de pimiento en el contexto nacional y regional. Algunas particularidades	25
1.1.2. Importancia económica del cultivo de pimiento en la Región de Murcia	26
1.1.3. Tipos de pimiento cultivados en los invernaderos de la Región de Murcia ...	28
1.1.4. Técnicas de cultivo para el pimiento en la Región de Murcia	29
1.1.4.1. Cultivo en suelo bajo invernadero	29
Preparación del suelo	31
Desinfección del suelo	31
Producción de la planta	32
Plantación	32
Riego y fertilización	33
Poda y entutorado	34
Recolección	34
1.1.5. Problemática fitosanitaria asociada al cultivo de pimiento en la Región de Murcia	34
1.1.5.1. Breve reseña histórica	34
1.1.5.2. Las enfermedades fúngicas del pimiento relacionadas con el suelo en la Región de Murcia	35
Hongos productores de podredumbres corticales en raíz y cuello...	36
Hongos productores de traqueomicosis	38
Hongos productores de podredumbres blandas en tallos	39
Otros hongos del suelo	40
1.1.5.3. Enfermedades producidas por nematodos	41
1.2. La fatiga del suelo: causas y componentes	42
1.3. El control de las enfermedades de suelo en cultivos de pimiento realizados en invernadero	44
1.3.1. La desinfección y los desinfectantes	44
1.3.1.1. El bromuro de metilo y la problemática de uso	45
1.3.1.2. Las alternativas al bromuro de metilo y su aplicación	47
Alternativas químicas	48
Metam sodio	48
Dazomet	49

Cloropicrina	50
Mezcla dicloropropeno+ cloropicrina	50
Alternativas no químicas	51
Biofumigación	51
Solarización	53
Biofumigación con solarización (biosolarización)	54
Injerto	55
Medios biológicos	56
Empleo de <i>Trichoderma</i> como agente de control biológico	57
PARTE II. UN ENFOQUE BIBLIOGRÁFICO SOBRE LOS HONGOS TELÚRICOS, CON ESPECIAL ÉNFASIS EN LOS HABITANTES DE LOS SUELOS AGRÍCOLAS	59
1.4. Introducción	59
1.5. Técnicas analíticas para hongos del suelo	60
1.5.1. Técnica de las diluciones sucesivas del suelo en agua estéril	62
1.5.2. Técnica del suelo en placa o de la adición del suelo al medio de cultivo fundido	64
1.5.3. Método de Cambridge y técnica para evaluar el potencial infeccioso de los suelos	65
1.5.4. Fitopatometría de suelos	66
1.5.5. Técnicas de muestreo del suelo para análisis de hongos	67
1.6. Hongos del suelo. Habitantes e invasores del medio edáfico	72
1.6.1. Grupos ecológicos de los hongos del suelo	72
1.6.2. Habilidad saprofitaria de los hongos telúricos	75
1.6.3. Habilidad saprofitica de competición para la colonización de sustratos orgánicos muertos	76
1.6.4. Ejemplos históricos sobre la influencia de algunas actividades agrícolas en la microbiota fúngica	81
1.7. Objetivos	87
2. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	91
2.1. Técnicas de estudio de la microbiota fúngica del suelo	91
2.1.1. El muestreo	91
2.1.2. La preparación de las muestras de suelo	93
2.1.3. Método analítico	94
2.1.3.1. Análisis para conocer la microbiota fúngica total	95
2.1.3.1.1. Conteo de las colonias y expresión de los resultados	96
2.1.3.1.2. Estudio taxonómico de los aislamientos de los géneros de hongos comúnmente aislados	98
Características más relevantes de los géneros de hongos encontrados, exceptuando al género <i>Fusarium</i> spp	98
<i>Aspergillus</i> spp.	98
<i>Penicillium</i> spp.	100
<i>Rhizopus</i> spp.	101
<i>Trichoderma</i> spp.	102
2.1.3.2. Análisis para conocer la microbiota fusárica	102
2.1.3.2.1. Conteo de las colonias y expresión de los resultados	105
2.1.3.2.2. Estudio taxonómico de los aislamientos de <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> y <i>F. roseum</i>	106

2.2. Características de los invernaderos muestreados	113
Invernaderos experimentales	113
Invernadero H	113
Invernadero CH	114
Invernadero E	115
Invernaderos con cultivos comerciales	116
Invernadero Q	116
Invernadero Q'	117
Invernadero O	117
Invernadero B	118
Invernadero P	119
3. EFECTO DE LA DESINFECCIÓN SOBRE LA MICROBIOTA EDÁFICA O TELÚRICA.	123
3.1. Introducción	123
3.2. Materiales y métodos	124
3.2.1. Planteamiento de los ensayos	124
3.2.2. Localización y características de los invernaderos	126
3.2.3. Tratamientos evaluados	126
3.2.3.1. Desinfectantes químicos	126
Invernadero H	126
3.2.3.2. Desinfectantes no químicos	128
Invernadero CH	128
Invernadero E	130
Invernadero Q	132
3.2.4. El análisis estadístico de los datos	134
3.3. Resultados y discusión	135
3.3.1. Desinfectantes químicos	135
Eficacia de los desinfectantes	135
Invernadero H	136
Microbiota total	136
Microbiota fusárica	142
3.3.2. Desinfectantes no químicos	147
Eficacia de los desinfectantes	147
Invernadero CH	147
Microbiota total	147
Microbiota fusárica	149
Invernadero E	150
Año 2001	151
Microbiota total	151
Microbiota fusárica	153
Año 2002	155
Microbiota total	155
Microbiota fusárica	157
Año 2003	159
Microbiota total	160
Microbiota fusárica	161
Invernadero Q	175
Año 2002	177

Microbiota total	177
Microbiota fusárica	181
3.4. Ensayo de síntesis y conclusiones	184
4. VARIACIÓN DE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA EN EL SUELO DURANTE EL CICLO DE CULTIVO	189
4.1. Introducción	189
4.2. Objetivos generales	191
4.3. Materiales y métodos	192
4.3.1. Planteamiento de los ensayos	193
4.3.2. Localización y características de los invernaderos	194
4.3.3. Desinfección del suelo	194
Desinfectantes químicos	194
Invernadero H	194
Invernadero P	196
Invernadero B	197
Desinfectantes no químicos	198
Invernadero CH	198
Invernadero E	199
Invernadero O	202
Invernadero Q	202
Invernadero Q'	203
4.3.4. El análisis estadístico de los datos	204
4.4. Resultados y discusión	205
Invernadero H	205
Efecto del humedecimiento del suelo durante el cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en suelos con diferentes tratamientos	205
Densidades fúngicas en suelo seco	209
Microbiota total	209
Microbiota fusárica	211
Densidades fúngicas en suelo húmedo	212
Microbiota total	212
Microbiota fusárica	214
Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos	216
Campaña 2002/2003	216
Microbiota total	216
Microbiota fusárica	218
Campaña 2003/2004	219
Microbiota total	219
Microbiota fusárica	220
Efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción	222
Campaña 2002/2003	222
Campaña 2003/2004	224
Invernadero CH	226
Efecto del humedecimiento del suelo durante el cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en suelos con diferentes tratamientos	226

Densidades fúngicas en suelo seco	231
Microbiota total	231
Microbiota fusárica	232
Densidades fúngicas en suelo húmedo	234
Microbiota total	234
Microbiota fusárica	236
Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos	238
Campaña 2002/2003	238
Microbiota total	238
Microbiota fusárica	240
Campaña 2003/2004	243
Microbiota total	243
Microbiota fusárica	245
Efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción	247
Campaña 2002/2003	247
Campaña 2003/2004	249
Invernadero E	251
Efecto del humedecimiento del suelo durante el cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en suelos con diferentes tratamientos	251
Densidades fúngicas en suelo seco	256
Microbiota total	256
Microbiota fusárica	257
Densidades fúngicas en suelo húmedo	259
Microbiota total	259
Microbiota fusárica	261
Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos	261
Campaña 2001/2002	261
Microbiota total	261
Microbiota fusárica	265
Campaña 2002/2003	267
Microbiota total	267
Microbiota fusárica	267
Campaña 2003/2004	271
Microbiota total	271
Microbiota fusárica	272
Efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción	274
Campaña 2001/2002	274
Campaña 2002/2003	277
Campaña 2003/2004	278
Invernadero P	280
Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos	280
Campaña 2002/2003	280
Microbiota total	280
Microbiota fusárica	282
Efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción	285

Campaña 2002/2003	285
Invernadero B	287
Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos	287
Campaña 2003/2004	287
Microbiota total	287
Microbiota fusárica	289
Efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción	292
Campaña 2003/2004	292
Invernadero O	294
Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos	294
Campaña 2003/2004	294
Microbiota total	294
Microbiota fusárica	296
Efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción	298
Campaña 2003/2004	298
Invernadero Q	300
Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos	300
Campaña 2001/2002	300
Microbiota total	300
Microbiota fusárica	301
Invernadero Q'	303
Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos	303
Campaña 2002/2003	303
Microbiota total	303
Microbiota fusárica	304
4.5. Ensayo de síntesis y conclusiones.....	309
5. IMPLICACIONES PARASITARIAS DE <i>F. solani</i>, <i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i> AISLADOS DE LOS SUELOS DE LOS INVERNADEROS DE PIMIENTO	315
5.1. Introducción	315
5.2. Objetivos	315
5.3. Material y métodos	315
<i>Fusarium solani</i>	317
Otros hongos	318
5.3.1. Análisis estadístico de los datos	318
5.4. Resultados y discusión	319
5.4.1. Evaluación de patogeneidad de 15 aislados de <i>F. solani</i>	319
<i>Fusarium solani</i> : inoculación en estado de semillas	319
<i>Fusarium solani</i> : inoculación en plantas (2 cotiledones)	323
<i>Fusarium solani</i> : inoculación en plantas (2 hojas verdaderas)	327
5.4.2. Evaluación de 5 aislados de <i>F. solani</i>	330
<i>Fusarium solani</i> : inoculación en estado de semillas	331
<i>Fusarium solani</i> : inoculación en plantas (2 cotiledones)	334

<i>Fusarium solani</i> : inoculación en plantas (2 hojas verdaderas)	335
<i>Fusarium solani</i> : inoculación en plantas (4 hojas verdaderas)	337
5.4.3. Patogenicidad de 2 especies de <i>Aspergillus</i> y 1 de <i>Penicillium</i> comparada con <i>F. solani</i>	338
Inoculación en semillas en vermiculita	338
Inoculación en semillas en cámara húmeda	338
5.5. Ensayo de síntesis y conclusiones	341
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	345
7. RESUMEN	371

Introducción

INTRODUCCIÓN GENERAL

general

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

PARTE I. EL MODELO DE ESTUDIO

1.1. EL CULTIVO DE PIMIENTO EN LA REGIÓN DE MURCIA

1.1.1. Situación del cultivo de pimieto en el contexto nacional y regional. Algunas particularidades

España ostenta ser el primer país europeo productor de pimiento representando el 4% de la producción mundial (FAO, 2003), por detrás de países como China, con un 49% o Méjico, con un 8%. De hecho, el pimiento es uno de los cultivos hortícolas bajo invernadero con mayor superficie cultivada en nuestro país. En el año 2003, el cultivo de pimiento en España ocupaba 22.000 ha, con una producción de 994.200 t que se cultivaron en su mayoría bajo plástico, según datos obtenidos de la Estadística Agraria del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Es en el Sudeste peninsular donde se concentra más de 88% de la producción. Almería, con unas 8.600 ha y una producción que supera ligeramente las 500.000 t (Estadísticas Agrarias. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía) en 2003, fue con diferencia, la provincia con mayor superficie de pimiento en invernadero a la que le siguió Murcia con 1.810 ha y 147.140 t en el mismo año.

Mientras que en Almería predomina el cultivo realizado en el período otoño-invernal, consiguiendo cosechas tardías de frutos cuadrados cortos (California), en Murcia se persiguen cosechas tempranas con cultivos realizados en invierno y primavera utilizando, cada vez más, variedades tipo California frente a las tradicionales de pimientos largos y semilargos del tipo Lamuyo.

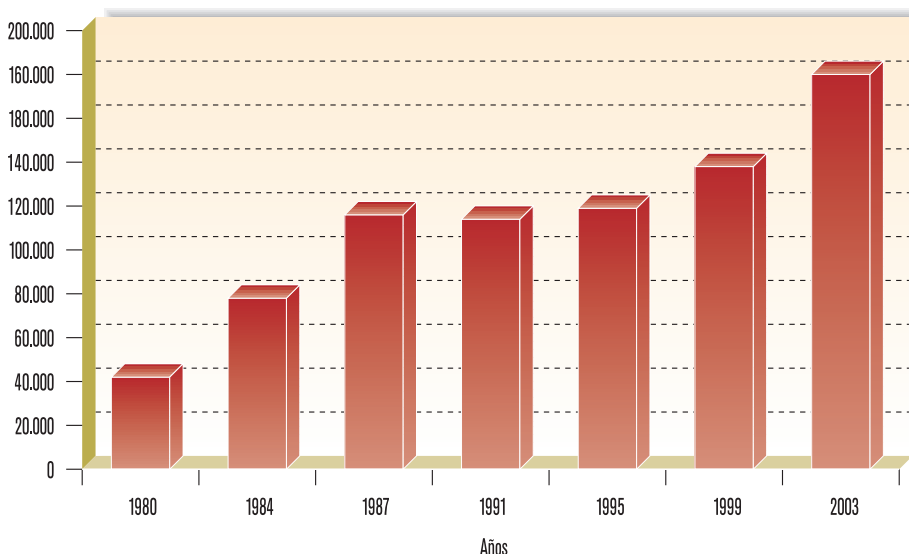
En cuanto a los cultivos en invernadero, el pimiento es el segundo gran cultivo bajo invernadero (1.761 ha en 2006) en la Región de Murcia, por detrás del tomate (3.100 ha en 2006). Debido a las connotaciones de nuestra Región, ni qué decir tiene que el 100% de la superficie dedicada al cultivo de hortalizas se encuentra en regadío.

La evolución tan espectacular que ha sufrido el cultivo viene explicada por diferentes motivos: el primero de ellos, originado sin duda alguna, por la llegada de los caudales provenientes del Tránsito Tajo-Segura que comenzaron un histórico día 29 de junio de 1980, en segundo lugar, por la capacidad y el espíritu emprendedor de muchos de los agricultores de antigua tradición y vocación pimentonera de la zona y por último, por la posibilidad de abastecer el mercado (nacional y europeo) en los meses en los que no lo hace Almería.

Además, y como ya apuntaron GONZÁLEZ *et al.* (1992), el almacenamiento de volúmenes de agua en embalses para asegurar la dotación hídrica para varios riegos y con ello, la racionalización del uso del agua mediante la implantación del riego localizado, unido a la aparición de films flexibles que se adaptaban a las estructuras primitivas del invernadero tradicional de tipo parral y a la gran rentabilidad económica obtenida del producto, han sido otras de las razones que han impulsado el desarrollo del cultivo protegido en la zona.

El cultivo de pimiento en invernadero en la Región de Murcia experimentó un gran desarrollo en la década de los 80 y principios de los 90 del pasado siglo, reflejado tanto en la superficie cultivada (778 ha en 1984 y 1.810 ha en 2003), como en los rendimientos unitarios obtenidos. Pero lo más espectacular ha sido el aumento de las producciones, debido a mejoras en las estructuras de los invernaderos, en las técnicas culturales así como en el empleo de variedades más productivas.

Gráfico 1. Evolución de la producción de cultivo de pimiento bajo invernadero durante el período 1980-2003 (t)



Fuente: Estadística Agraria de Murcia 1984, 1991-1993, 1998-1999, 2001-2003.

Tabla 1. Superficie ocupada por el pimiento en las áreas que lo cultivan de la Región de Murcia (ha)

Zona de Cultivo	Torre Pacheco	San Javier	San Pedro del Pinatar	Cartagena	Vega del Segura	Valle del Guadalentín
Superficie (ha)	732	637	189	65	89	14

Fuente: Estadística Agraria de Murcia 2003

De las 1.810 has que se cultivaron de pimiento en la Región de Murcia en 2003, el 94% se encuentra en la comarca del Campo de Cartagena (Figura 1), área que se prolonga de forma natural hacia el sur de la provincia de Alicante (término de Pilar de la Horadada). En él, se localiza la mayor parte del cultivo de pimiento en la Región de Murcia. La comarca comprende los términos municipales de Cartagena, El Mirador, Los Alcázares, San Cayetano, San Javier, San Pedro del Pinatar y Torre Pacheco. Esta zona productora se asienta en un área de tradición y vocación pimentonera, donde el monocultivo de pimiento en invernadero coexistía hasta mediados de los años noventa del siglo XX con el pimiento para pimentón, realizado al aire libre.



Figuras 1 y 2. Vista aérea del Campo de Cartagena (izquierda), donde se localizan los invernaderos de pimiento (áreas rojas de la derecha).

Fuente: SIAM.

La superficie cultivada de pimiento para consumo en fresco en dicha comarca, estaba comprendida entre las 1.712 y las 1.810 ha entre los años 2000 y 2003 representando entre el 90% y el 98% seguida en menor medida por la Vega del Segura y el Valle del Guadalentín con anecdóticas aportaciones. En la actualidad, el cultivo con fines industriales se mantiene en el Valle del Guadalentín ocupando unas 543 ha en 2003. La producción total anual de pimiento en la Región de Murcia fue de 158.945 t en el año 2003, según las Estadísticas Agrarias de la Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia.

En conjunto, las hortalizas generaron en la Región de Murcia, en 2003, una producción de más de 1.778 miles de toneladas de producto, cuyo valor ascendió a 742,10 millones de euros. En concreto, los pimientos y tomates supusieron más de

la mitad de los beneficios obtenidos por los productos hortícolas a nivel regional, (FE-COAM-Estimación de la valoración de la Campaña Agrícola Regional 02/03).

El ciclo de cultivo que se viene realizando en la zona es el de primavera, en el que la fecha de plantación oscila entre finales de noviembre y principios de enero. Una plantación más precoz, implicaría un mayor riesgo en el ataque de enfermedades, lo que provocaría pérdidas en la calidad de los frutos. Una plantación más tardía, aunque con menores problemas sanitarios y mejor calidad de los frutos, obtendría peores cotizaciones que la plantación más precoz.

En este ciclo, la recolección suele iniciarse en marzo-abril y termina en julio o agosto, dependiendo del tipo de desinfección de suelo que se pretenda realizar y de la cotización de precios en el mercado. De esta forma se complementa con el que se viene realizando en Almería, que tiene otras connotaciones. En la Tabla 2 se puede comparar el ciclo de esta zona con el del resto de las zonas productoras que acceden al comercio europeo.

Tabla 2. Cronograma con los ciclos productivos

	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.
Campo Cartagena												
Almería												
Turquía												
Israel												
Holanda												

Fuente: LÓPEZ, 2006

1.1.2. Importancia económica del cultivo de pimiento en la Región de Murcia

El pimiento, en la zona productora del Campo de Cartagena, forma parte de una horticultura intensiva muy tecnificada, dinámica, moderna y competitiva, con marcada proyección a la exportación a Europa.

Además, se trata de un cultivo eminentemente social, del que dependen aproximadamente unas 1.455 familias con una superficie media de las explotaciones de 1,23 ha en 1997 (LÓPEZ, 1998) y de 1,5 ha en 2006 (LÓPEZ, 2006). El cultivo requiere gran cantidad de mano de obra, con lo que genera el empleo de unas 3.569 personas en campo, unas 1.785 en almacén y unos 714 empleos indirectos, en lo que se refiere a empresas auxiliares de invernaderos, proveedores de plásticos, riegos, fertilizantes, fitosanitarios, embalaje, transporte, industria, etc., lo que suponen unos 6.068 empleos, y con ello un importe en mano de obra de más de 49 millones de euros.

Su posición relativamente cercana a los mercados europeos y un conjunto de microclimas privilegiados, con una bondad climática invernal que le permite ser competitivo en calendarios y precios, han permitido la orientación productiva de este cultivo con recolecciones hacia los meses de primavera y verano (desde marzo hasta septiembre) y plantaciones en noviembre y diciembre en invernadero, ser un monocultivo de alto valor y elevado grado de especialización (LÓPEZ, 1998).

En cuanto al valor de la producción de pimiento en la campaña 2002/03 fue de unos 137,4 millones de euros, según datos de la Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. La aportación al subsector agrícola de la producción final agraria (PFA) fue de más del 6% la misma campaña y más del 13% en el conjunto del grupo de las hortalizas. Por lo que la trascendencia del cultivo en esta zona productora es manifiesta por la magnitud social y económica que alcanza, siendo una fuente de riqueza y empleo, y el verdadero motor de la economía local, teniendo también un importante peso en la industria conservera regional a donde se desvían los excedentes y los desríos (por reducido calibre) del manufacturado para consumo en fresco. Pero la principal orientación es la del consumo en fresco, tanto para el mercado nacional como de exportación.

En cuanto a las exportaciones de pimiento desde la Región de Murcia, éstas se destinan principalmente a los mercados de Alemania, Francia e Italia principalmente (Tabla 3), aunque fueron más de 27 los países que recibieron pimientos murcianos en los últimos años.

Tabla 3. Exportaciones de pimiento desde la Región de Murcia a los principales países europeos (cantidades muy próximas o superiores a 1.000 t)

País	Cantidad (t)	Valor (miles de €)
Alemania	20.712	27.243
Austria	1.610	2.290
Dinamarca	981	1.461
Francia	13.624	14.924
Italia	8.123	8.598
Países Bajos	4.119	4.919
Polonia	1.665	2.522
Portugal	4.279	4.893
Reino Unido	1.459	1.990
República Checa	1.541	2.050
Total	60.272	73.785

Fuente: FECOAM-Estimación de la valoración de la Campaña Agrícola Regional 02/03.

Los tres principales sistemas de comercialización que tiene el pimiento son:

- Las Entidades Asociativas Agrarias, calificadas como Organización de Productores que exportan directamente su producto.
- Las Subastas (Alhóndigas o Corridas) a las que acuden los agricultores no agrupados, los cuales ponen su producto en manos de los operadores y exportadores privados.
- Los exportadores privados, que suelen ser empresas familiares que tienen sus propios canales de comercialización.

1.1.3. Tipos de pimiento cultivados en los invernaderos de la Región de Murcia

El principal tipo de pimiento cultivado en la Región de Murcia, concretamente en el Campo de Cartagena, es en la actualidad el California (cuadrados cortos), cuya utilización ha ido en aumento, pues hasta hace escaso tiempo existía una proporción aproximada del 50% (GONZÁLEZ, 2002), con respecto a la producción total, y cuyo resto lo ocupaban los tipos largos y semilargos (tipo Lamuyo), pero actualmente el tipo California es cultivado en el 90% de los casos (MARTÍNEZ, 2005).

Las variedades más utilizadas en cada uno de ellos son:

- *Tipo California*: De sección longitudinal cuadrangular y maduración en rojo y amarillo, entre los primeros, los cultivares empleados han sido Orlando, el más empleado por su precocidad, y junto con él, Habana, Barbajillo y Marqués, y los resistentes a TSWV como Ribera, Requena, Cornago, Quito o Cabezo que ofrecen mejor comportamiento fitopatológico. Entre los cultivares cuyos frutos maduran en amarillo se encuentran Capino, Fiesta o Tercio y algo menos, Zafra y los resistentes a TSWV como Vélez, Cierva, Limona, etc. El destino principal de esta producción son los mercados del norte europeo.
- *Tipo Lamuyo*: De sección longitudinal rectangular y maduración en rojo y en amarillo. Entre los de maduración en rojo, las plantas son vigorosas, de crecimiento indeterminado y los frutos tienen un tamaño aproximado que resulta ser el doble de largo que de ancho (NUEZ *et al.*, 1998). De color verde en estado inmaduro, se tornan rojos en la madurez. Entre los cultivares largos de este tipo, están Mariner, Dallas, Herminio, El Pilar, Lido y los resistentes a TSWV (Galileo, Almudén) para verde y maduración en rojo. Maribel, Spiro y Paraíso son los cultivares empleados para maduración en amarillo, que suponen alrededor de un 20%. El des-

tino de este tipo semilargo son los mercados italianos, portugueses, sur francés y el mercado interior.

- **Tipo Dulce Italiano:** De sección longitudinal triangular, la principal variedad de pimiento cultivada en España es la Dulce Italiano, que es un pimiento verde de maduración en verde, siendo su principal uso para freír. En Murcia, la superficie dedicada a este cultivo es muy reducida y representa una minoría.
- **Otros tipos:** Los conocidos como especialidades son cada vez más frecuentes, ante la demanda de los mercados europeos. Se trata de variedades con formas, colores y usos diversos: pimiento de Padrón, pimientos blancos, morados anaranjados, cónicos rectos y curvados, mini-California, picantes (guindillas y cayenas), etc. para mercados singulares de consumo en fresco.

La elección de las diferentes variedades, deriva de la adaptación de cada una de ellas a las condiciones de los agricultores, pero en dicha elección tienen un gran peso las cuestiones comerciales a veces impuestas por las organizaciones de ventas en respuesta a la demanda de los clientes finales. Aún con las connotaciones mencionadas, las variedades preferentemente cultivadas son las que cuentan con resistencia incorporada al virus del bronceado del tomate, que es el problema fitopatológico de mayor trascendencia y repercusión en el cultivo del Campo de Cartagena.

1.1.4. Técnicas de cultivo para el pimiento en la Región de Murcia

1.1.4.1. Cultivo en suelo bajo invernadero

En la Región de Murcia y en el sur de la provincia de Alicante, el pimiento se cultiva en invernadero mayoritariamente en suelo desnudo, siendo un monocultivo en más del 95% de la superficie (LACASA y GUIRAO, 1997). En la actualidad, en casi un 6% de la superficie se realizan cultivos en sustratos, como sustitución del suelo, debido a las dificultades en el control de los patógenos del suelo y a los efectos de la reiteración del monocultivo de forma ininterrumpida en el mismo suelo.

La construcción tradicional de invernaderos tipo parral ha sido sustituida por otra de mayor altura de tipo capilla (Figura 3) o multitúnel en los que se cuentan con sistemas de control de las condiciones climáticas. Es frecuente utilizar como material de cubierta polietileno térmico o plásticos tricapa, incluso una doble cubierta interior para aumentar la temperatura y reducir la humedad relativa a la altura de las plantas, así como disponer de sistemas de ventilación lateral y cenital, mejorando la perfección de los cerramientos (GONZÁLEZ *et al.*, 1998).



Figura 3. Detalle de un invernadero tipo capilla con estructura de palos metálicos en su interior, en este caso, propiedad del IMIDA, en Torre Blanca (Término municipal de Torre Pacheco).

Los invernaderos tradicionales de tipo parral constan básicamente, de una estructura de madera o metálica, donde descansan las cubiertas de plástico a dos aguas, con una pendiente que oscila entre el 5 y el 20% y con unas dimensiones en los módulos que oscilan entre 20-30 m de ancho y unos 30-250 m de largo.

En la mayoría de los casos, el cultivo se viene realizando desde hace varios años en invernaderos de tipo parral con estructura metálica de tubos de hierro galvanizado. De esta forma se reduce el número de palos a utilizar en relación a los antiguos de madera.



Figura 4. Detalle de un cultivo de pimiento en invernadero tipo multitúnel situado en El Mirador (Término municipal de San Javier).

Las nuevas construcciones, pertenecen al tipo multitúnel (Figura 4) y presentan ventajas frente a los anteriores por contar con más superficie de cultivo al reducirse el número de postes y tener mayor altura, pero la mayor ventaja consiste en la capacidad para controlar el clima, ya sea mediante colocación de pantallas térmicas, de sombreado o con la ventilación, además de la temperatura mediante calefacción o nebulización, según interese. Con todo ello, este tipo de invernadero está menos implantado entre los agricultores, principalmente por su enorme coste, entre los 12 y los 60 €·m².

Una parte de la producción de pimiento en invernadero en la Región de Murcia, se obtiene bajo criterios de control integrado de plantas o de producción integrada. Estos planteamientos se llevan a cargo mediante actuaciones extensivas y generalizadas para toda la superficie de cultivo, en intervenciones conjuntas de los productores, asociaciones agrarias y servicios oficiales de la administración regional.

PREPARACIÓN DEL SUELO

Terminado el cultivo, se cortan los hilos y se retiran junto al resto de los elementos del entutorado. Si no se incorporan al suelo, se retiran los restos de plantas. A continuación se dan dos pases cruzados de subsolador y, un par de días después, un pase de fresadora, dejando el suelo preparado para la desinfección. Si se incorporan los restos de las plantas, se da un pase de fresadora ligero para triturarlas, luego los dos pases de subsolador y, finalmente, otro de fresadora.

Una vez terminada la desinfección, se incorpora el estiércol, para mantener el nivel de fertilidad con un contenido en materia orgánica próximo al 3%. De esta forma, se favorece el mantenimiento de la textura y estructura, además de proporcionar los elementos fertilizantes que aporta. La cantidad aportada suele variar entre 2 y 4 kg·m⁻² y se incorpora con suficiente antelación a la plantación.

Si la desinfección se realiza con producto aplicado con el agua, los pases de subsolador se dan tras la desinfección y antes de incorporar el estiércol.

DESINFECCIÓN DEL SUELO

La desinfección del suelo es un método relativamente caro y sofisticado de controlar los patógenos. Se emplea, normalmente en cultivos protegidos de gran valor añadido (KATAN, 2005) y algunas veces al aire libre. La necesidad de desinfectar los suelos deriva también del hecho de la reiteración del mismo cultivo en el mismo suelo, lo que provoca alteraciones en las características biológicas, químicas y físicas del suelo, conduciendo a una reducción del desarrollo de las plantas y una pérdida significativa de cosecha, tanto cualitativa como cuantitativamente.

Por ello el objeto de la desinfección no es solo controlar las enfermedades de origen edáfico sino, también, mejorar y reestablecer los niveles de producción del cultivo. Estos objetivos cobran especial importancia en regiones donde las opciones de un determinado cultivo son limitadas por la escasez de tierra o por la concentración de núcleos de oferta comercial en un determinado lugar.

Esta práctica se hace indispensable en los invernaderos de pimiento del Campo de Cartagena por tratarse de un monocultivo desde hace más de veinte años en más del 60% de la superficie y porque una parte de los suelos se encuentran contaminados de patógenos (*Phytophthora capsici* y *Meloidogyne incognita*) y son limitantes para el cultivo (LACASA y GUIRAO, 1997). Hasta su prohibición, con la excepción para usos críticos, se ha venido empleando para ello el bromuro de metilo anualmente, tradicionalmente aplica-

do a $60 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ del formulado 98:2, sellando el suelo con plástico de polietileno (PE) de 200 galgas (0,05 mm) y, a partir de 1998 a razón de $40 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ del mismo formulado y sellado con plástico VIF (Virtually Impermeable Film) de 160 galgas (0,04 mm).

PRODUCCIÓN DE LA PLANTA

En toda la superficie cultivada de pimiento en el Campo de Cartagena se utilizan plantas con cepellón producidas en semilleros o viveros comerciales especializados. Las semillas se siembran, de forma mecanizada, en un sustrato hortícola de composición específica para pimiento y dispensado, también mecánicamente, en bandejas de poliestireno de 216 alvéolos (de $3\times 3\times 6,5$ cm, para las siembras tempranas) o de 150 alvéolos (de $4\times 4\times 6,5$ cm, para siembras tardías), a una profundidad de unos 3 mm, cubriéndolas con una fina capa de vermiculita.

Tras el riego, las bandejas se trasladan a la cámara de germinación, donde se mantienen de 48 a 72 horas a una temperatura de $22\text{-}25^\circ\text{C}$. A continuación, se extienden las bandejas en invernaderos que disponen de apoyo térmico, necesario en el caso de siembras tardías. Allí permanecen de 40 a 45 días por tratarse de condiciones invernales en nuestra zona en ese momento (GAMAYO, 1996). En estos invernaderos los riegos se realizan por aspersión, y la fertilización se realiza mediante abonos complejos solubles.

En el momento del trasplante, la planta, además de los cotiledones, presenta de 6 a 7 hojas verdaderas, y mide unos 15-18 cm. Suelen transcurrir unos 45-55 días entre la siembra y el trasplante, dependiendo de las condiciones climáticas.

PLANTACIÓN

La plantación de los invernaderos de la Región de Murcia, se viene realizando entre mediados de noviembre (los más precoces y que suelen corresponder con los que ocasionalmente realizan alguna rotación) y mediados de enero (los más tardíos y que suelen ser los que han finalizado el cultivo precedente a finales de septiembre o principios de octubre), con una concentración máxima en el mes de diciembre.

En los invernaderos del Campo de Cartagena, las densidades de plantación varían entre las 25.000 y 30.000 plantas $\cdot\text{ha}^{-1}$, lo que vendría a corresponder a un marco de plantación de 0,30-0,40 m entre plantas y 1,0 m entre líneas, puestas en sentido perpendicular al eje mayor del invernadero, generalmente en la orientación Norte-Sur.

RIEGO Y FERTIRRIGACIÓN

La totalidad de los invernaderos de pimiento de la Región cuentan con un sistema de riego localizado de alta frecuencia para aprovechar al máximo el agua de la que disponen, con goteros de caudales que oscilan entre 2 y 4 l·h⁻¹, siendo los más frecuentes los de 3 l·h⁻¹. Los ramales se disponen normalmente a 1 m de separación (en los invernaderos más antiguos es de 1,12 m) y los goteros a 0,30-0,40 m de distancia entre ellos. En algunos invernaderos se emplean cintas de riego de rezume con caudales de 4 l·h⁻¹ y metro lineal.

Tras un buen abonado de fondo con el que se cubren las necesidades de nitrógeno de las primeras fases del desarrollo de las plantas, no se suele forzar el cultivo hasta que se forman los primeros frutos y éstos tienen un tamaño aproximado de unos 3 cm de diámetro, evitando de este modo que la planta tire las flores y los frutos recién cuajados.

Los aportes de agua al cultivo se realizan en función de las necesidades del mismo, dependientes del estado fenológico, de las características del suelo y de las condiciones ambientales. Para el establecimiento de la plantación se suele dar un primer riego, llamado de postura, copioso, de varias horas procurando humedecer una buena zona alrededor de la planta. Para mejorar la eficiencia del humedecimiento, la manguera se suele poner en el fondo de un pequeño surco, disponiendo las plantas a la altura de cada emisor, en el borde del surco.

Al cabo de unos días del trasplante, se le da otro riego, llamado de enjuague, mucho menos copioso que el primero, y a partir de ese momento es cuando se suele forzar a la planta manteniéndola casi un mes sin riego para provocar el crecimiento del sistema radicular. Justo antes de reiniciar los riegos, se suele labrar en las proximidades de las filas de plantas y hacer un surco de nuevo, separado unos 10 cm de la planta en la zona donde se instalará la manguera portagoteros, de forma que, a lo largo del cultivo el agua del emisor no moje el cuello de las plantas; así se evita el engrosamiento de la base del tallo (pié de elefante) típica de la asfixia de cuello (TELLO *et al.*, 1987).

Con el cuajado de los primeros frutos, se inicia la regularización de los riegos a intervalos de tiempo cada vez más cortos. Estos períodos se determinan en base al estado de humectación del suelo, mediante tensiómetros o sondas de neutrones, ya contempladas en los sistemas automatizados de fertirrigación (RINCÓN *et al.*, 2005). Los aportes de abonos en el agua de riego a partir del momento en que han cuajado los primeros frutos se realiza de acuerdo al desarrollo de las plantas y a las extracciones calculadas en la zona para una producción media de 10 a 12 kg·m⁻² (RINCÓN *et al.*, 2005).

PODA Y ENTUTORADO

En los invernaderos del Campo de Cartagena no es una práctica habitual entre los agricultores realizar algún tipo de poda. En ocasiones se eliminan los brotes que salen en las axilas de las hojas situadas por debajo de la cruz.

El entutorado que tradicionalmente se viene realizando es el de hilos pareados horizontales a distintas alturas, que sujetan las plantas entre ellos y que se tensan mediante hilos transversales colocados cada 3-4 plantas. El primer piso se pone por debajo de la cruz y el resto a 25-30 cm. Dicho entutorado horizontal se apoya en hilos verticales que cuelgan de alambres o del techo, a una distancia de 1,5-2 m. En los extremos de la línea de cultivo suelen haber arquillos metálicos o clavillas a los que se atan los hilos horizontales.

RECOLECCIÓN

La recolección comienza, para las fechas más tempranas en marzo y para las más tardías en abril. Suele alargarse hasta finales de julio en el primer caso y hasta septiembre en el segundo, según el estado y comportamiento del cultivo, dando cortes al principio cada quince o veinte días e intensificándose éstos en las épocas más calurosas. Se realiza de forma cuidadosa, con tijera, cortando por encima del fruto para dejar un poco de pedúnculo y manipularse con cuidado evitando todo tipo de roces y heridas. Últimamente, existe una tendencia de recolectar el fruto con la totalidad del pedúnculo, especialmente algunas variedades de tipo California, o cumpliendo los requisitos de los almacenes procesadores o los comerciantes.

Dependiendo de las orientaciones del mercado, se recolectan frutos en verde o rojo y de las variedades de maduración en rojo y en amarillo las variedades de maduración en amarillo. Las especialidades se recolectan en el estado de aceptación comercial de cada variedad.

1.1.5. Problemática fitosanitaria asociada al cultivo de pimiento en la Región de Murcia

1.1.5.1. Breve reseña histórica

Las primeras noticias que se tienen sobre el cultivo de pimiento en la Región de Murcia, se sitúan a comienzos del siglo XVI. Debió ser introducido por los frailes de Los Jerónimos y cultivado en unas parcelas que poseían cerca de la Rueda y de la Acequia Mayor de La Ñora. Precisamente, el nombre de ñora (utilizado para referirse al pimiento para pimentón) provenga de la su primer lugar de producción (COSTA y ALEMÁN, 1982).

Más tarde, este cultivo se extendió por toda la ribera del río Segura, en especial por las zonas cercanas a Molina de Segura. A principios del siglo pasado el cultivo de pimiento para pimentón se difunde a otras zonas de la provincia de Murcia, como Santomera, Valle del Guadalentín, Huerta de Murcia, Fortuna, etc. En esta época era frecuente que los agricultores de la Ribera hicieran los semilleros, vendiendo luego la planta a los agricultores de las demás zonas. Las plantas afectadas en semilleros, y llevadas a otras zonas de cultivo definitivo fueron la causa de dispersión y propagación de la enfermedad de la "tristeza" o "seca" del pimiento causada por *Phytophthora capsici* (COSTA y ALEMÁN, 1982).

A mediados del siglo XX, algunas de las zonas que habían sido importantes centros de producción de pimiento "ñora" o "bola", decrecieron en este cultivo debido a los ataques de los hongos del suelo a las plantaciones, y cuya relación con la sucesiva y continuada utilización de los mismos suelos para estas cosechas de pimiento parece quedó demostrada.

A principios de los años ochenta, las principales zonas productoras de pimiento para pimentón ocupaban el Campo de Cartagena: los términos municipales de Cartagena, Torre Pacheco, Fuente Álamo, San Pedro del Pinatar, San Javier y el Valle del Guadalentín, con los términos municipales de: Puerto Lumbreras, Lorca, Totana y Alhama. El total de superficie cultivada en 1980 era de 3.554 ha.

En la actualidad, en la Región de Murcia el cultivo de pimiento, con dos vertientes de utilización (para consumo en fresco y para cáscara molida: pimentón), se localiza en comarcas del Campo de Cartagena y en el Valle del Guadalentín (solo para la producción de cáscara para pimentón). El cultivo de especies para la industria, se realiza al aire libre, en zonas marginales de regadío, formando parte de rotaciones con cereales y otras hortalizas. El 98% del cultivo para el consumo en fresco, se realiza en invernaderos localizados en la comarca del Campo de Cartagena, en los términos municipales de San Pedro del Pinatar, San Javier, Torre Pacheco, Los Alcázares, Fuente Álamo y Cartagena, surgidos a principios de los años setenta del pasado siglo, y el resto al aire libre en la misma comarca.

1.1.5.2. Las enfermedades fúngicas del pimiento relacionadas con el suelo en la Región de Murcia

Los problemas fitopatológicos actuales de los suelos donde se realiza el cultivo es el reflejo o la consecuencia de la evolución histórica de las áreas de estudio: en las técnicas culturales, en las estructuras varietales, en la dinámica del comercio de insumos, en la intensificación de los cultivos, en la finalidad y destino de las producciones, en la cultura general y específica de los cultivadores, en la conciencia medioambiental y en las exigencias comerciales. La abstracción del suelo que supone la realización de cultivos sin suelo o cultivos hidropónicos, no

cambia mucho la problemática fitosanitaria ni en los aspectos cualitativos (los mismos patógenos que en los cultivos en suelo) ni en los cuantitativos (riesgos de epidemias graves) que comienzan a aparecer.

A) HONGOS PRODUCTORES DE PODREDUMBRES CORTICALES EN RAÍZ Y CUELLO

Por sus connotaciones, las especies de *Phytophthora* son los más importantes patógenos del suelo del pimiento en las áreas de estudio. Desde que en 1922 Leonian describió en el Sur de EE.UU. a *Phytophthora capsici* como causante de un marchitamiento del pimiento, el hongo ha sido citado en numerosos países como agente patógeno de esta planta. En este sentido, *P. capsici* es la especie más extendida y la que mayores daños produce (TELLO, 1984; PALAZÓN y PALAZÓN, 1989; BARTUAL *et al.*, 1991; TELLO y LACASA, 1997; 2004), requiriendo de intervenciones al suelo en preplantación para disminuir la cantidad de inóculo al inicio del cultivo.

Dicha especie se disemina en el agua de escorrentía y de riego mediante zoosporas ciliadas, formadas en el interior de esporangios (TUSET, 1973; 1977), como elementos de reproducción vegetativa. Las epidemias en los invernaderos se producirían por colonizaciones del suelo provenientes de arrastres por el agua, bien de escorrentía, bien de riego, o por la utilización de plantas contaminadas en los semilleros o viveros.

P. capsici se multiplica mediante órganos sexuales (anteridio y oogonio) pero, para ello, se necesita la confrontación de cepas complementarias. También se multiplica, de forma más generalizada, mediante reproducción asexual, por medio de esporangios, órganos para cuya formación el hongo requiere la presencia de agua. Estos órganos albergan en su interior gran cantidad de zoosporas ciliadas, capaces de nadar y de difundirse en el agua de riego a lo largo de todo el terreno. Las zoosporas germinan, dando lugar al micelio. La temperatura óptima para el desarrollo del micelio es de 25-28°C (TELLO, 1986; LEGÁZ, 1988).

Los síntomas más frecuentes presentados por *P. capsici* son los siguientes: Durante la primera fase de ataque, la planta sufre un marchitamiento brusco ("tristeza") y total ("seca"). Las hojas se tornan flácidas con pérdida de turgencia de los tejidos (PALAZÓN y PALAZÓN, 1989), manteniendo su color verde un cierto tiempo, hasta que, finalmente, terminan por secarse. Esta manifestación se muestra más súbita cuanto mayor es la temperatura en verano.

Coincidiendo con los primeros síntomas foliares, se observa una alteración en la raíz y la zona del cuello, en donde los tejidos aparecen necrosados, con un color marrón achocolatado. La cabellera radicular, y en especial, las raicillas jóvenes, se ven afectadas puntual o totalmente. Asimismo, la raíz principal se ve afec-

tada en alguna de sus partes o completamente. El final del ataque se manifiesta en la raíz, por aparecer absolutamente descompuesta. La manifestación de los síntomas se produce a lo largo de las líneas de cultivo, en el sentido en que se efectúa el riego.

La enfermedad de la “seca” o “tristeza” se presenta como limitante del cultivo en áreas de producción del pimiento con deficiencias en los drenajes y suelos altamente contaminados (comarca del Campo de Cartagena en Murcia), dadas las dificultades de control (TELLO y LACASA, 2004), resultando menos problemática en los suelos enarenados o donde se realizan rotaciones con cultivos no sensibles. Más del 38% de los invernaderos del Campo de Cartagena (Murcia) se encuentran contaminados de *P. capsici* y en más del 15% la incidencia de la “tristeza”, es considerada como grave, pese a la desinfección anual de los suelos con bromuro de metilo (LACASA y GUIRAO, 1997) y la aplicación de fungicidas específicos en las primeras fases del cultivo.

Ante la prohibición del uso del bromuro de metilo para la desinfección de los suelos de los invernaderos de pimiento, el control de la “tristeza” o “seca” sigue siendo un aspecto clave para el devenir futuro del cultivo en la Región de Murcia, habiéndose evaluado, con insistencia, soluciones alternativas a la problemática planteada por el hongo.

De las alternativas químicas al bromuro de metilo que se han ensayado en la desinfección de los suelos de los invernaderos de pimiento, la mezcla 1,3-dicloropropeno (1,3-D)+cloropicrina (Pic) y la cloropicrina (Pic) sola son las que proporcionan eficacias más próximas al bromuro (LACASA *et al.*, 1999; 2002a; 2002b; GUERRERO *et al.*, 2004). El metam sodio y el dazomet no proporcionan niveles de control aceptables (LACASA *et al.*, 2002; GUIRAO *et al.*, 2004), sucediendo lo mismo con el dimetil disulfito o el óxido de propileno (LACASA *et al.*, 2004).

La biofumigación con solarización, utilizando determinadas enmiendas orgánicas se ha mostrado eficaz para el control de *P. capsici* (LACASA *et al.*, 2002; GUERRERO *et al.*, 2004), cuando se reitera en el mismo suelo, tanto por el efecto de los gases de la biodescomposición de la materia orgánica como por el derivado de las mejoras en las características físicas del suelo producidas por la enmienda orgánica (GUERRERO *et al.*, 2004b; FERNÁNDEZ *et al.*, 2004).

No se dispone, en la actualidad de variedades comerciales de pimiento que tengan incorporada resistencia a *P. capsici*, aunque se conocen sus características genéticas (BARTUAL *et al.*, 1991; 1993). Los patrones utilizados para injertar pimiento han demostrado buenos niveles de control de la enfermedad (MIGUEL, 1997) y aceptables niveles de producción (MIGUEL, 1997; LACASA *et al.*, 2002; ROS *et al.*, 2004d), presentándose como una solución estable al problema, al no haberse encontrado variaciones en la patogenicidad de las poblaciones del hongo, pese

a reiterar el cultivo de patrones resistentes en el mismo suelo durante tres campañas consecutivas (LACASA *et al.*, 2002; ROS *et al.*, 2002; 2003; 2004d).

Sin embargo, la utilización de patrones en el mismo suelo de forma reiterada genera la aparición de fenómenos de fatiga específica (GUERRERO *et al.*, 2004b) o cansancio del suelo, necesitando de la desinfección del suelo para paliar la reducción en el desarrollo de las plantas y la merma de la producción (LACASA *et al.*, 2002, Ros *et al.*, 2004d). La combinación del injerto con la desinfección del suelo con dosis mitad de 1,3-D+Pic. palia los efectos de la fatiga del suelo, obteniéndose producciones y desarrollo vegetativo de las plantas similares al obtenido con bromuro de metilo (Ros *et al.*, 2004c).

B) HONGOS PRODUCTORES DE TRAQUEOMICOSIS

De los hongos productores de enfermedades vasculares en el pimiento sólo *Verticillium dahliae* ha sido encontrada en los cultivos españoles. Pese a tratarse de un hongo polífago y cosmopolita, en los monocultivos de los invernaderos de la Región de Murcia no parece encontrar un hábitat y condiciones adecuadas para su desarrollo (TELLO, 1984), no habiéndose encontrado en prospecciones y seguimientos regulares realizados en los cultivos de la región (LACASA y GUIRAO, 1997; TELLO y LACASA, 2004).

El hongo se conserva en el suelo en forma de microesclerocios e infectando a plantas colonizantes sobre las que se multiplica. La desinfección de los suelos en preplantación se considera el método más adecuado para el control (PALAZÓN, 1988). No se dispone de variedades de carne gruesa con resistencia a *V. dahliae*, aunque se han introducido en variedades de conserva (GIL *et al.*, 2001) y para pimentón (GIL y GUTIÉRREZ, 2001). Las mezclas de 1,3-D+Pic. se han mostrado tan eficaces como el bromuro de metilo en el control de la verticilosis en cultivos hortícolas (MINUTO *et al.*, 2000) al obtener reducciones de inóculo similares, tanto a 5 cm como a 20 cm de profundidad (MINUTO *et al.*, 2001).

El hongo se multiplica por vía conídica y por vía miceliar. Su permanencia en el suelo está asegurada por microesclerocios. Las temperaturas óptimas para el desarrollo se sitúan entre 22 y 25° C, ligeramente inferiores a las señaladas para *P. capsici* (PALAZÓN, 1988).

En el caso de la tristeza producida por *Verticillium dahliae*, los síntomas más frecuentes difieren ampliamente de los descritos para *P. capsici*. La flacidez inicial de las hojas, que puede observarse en la planta, como inicio del ataque, es más irregular y menos homogénea. Dentro de la misma planta, pueden encontrarse marchitamientos unilaterales en algunas de las ramificaciones, permaneciendo sana el resto de la planta. Las hojas amarillean, más o menos

rápidamente, terminando por desprenderse sin acabar de secarse. El sistema radical permanece normal hasta el final del ataque. Sin embargo, el sistema vascular manifiesta una coloración parduzca, como consecuencia de la ocupación de los haces por el hongo y su posterior oxidación. La manifestación de los síntomas aparece por rodales, heterogéneamente distribuidos por toda la parcela (PALAZÓN, 1988).

C) HONGOS PRODUCTORES DE PODREDUMBRES BLANDAS EN TALLOS

Tanto *Sclerotinia sclerotiorum* como *Botrytis cinerea* se conservan en el suelo entre un cultivo y el siguiente en forma de esclerocios. Ambos hongos son polífagos y se hallan ampliamente extendidos en los cultivos realizados en los invernaderos del Campo de Cartagena. Provocan podredumbres blandas en todos los órganos aéreos de la planta, teniendo mayor trascendencia los producidos por *B. cinerea* en las flores, en los frutos y las de ambos hongos en la base del tallo (TORÉS, 1994). El ciclo vital parte de los esclerocios que permanecen largo tiempo en el suelo en los restos de cosechas anteriores.

Los daños importantes suelen presentarse en el estado adulto (GUERRERO *et al.*, 2005), pero también pueden causar daños en plántulas en los semilleros o inmediatamente después del trasplante. Las primeras lesiones son diminutas y no se desarrollan, pero en invernaderos o semilleros mal ventilados, terminan produciendo la enfermedad, particularmente sobre plantas debilitadas o con heridas. La enfermedad se desarrolla con gran facilidad a partir de los cortes de poda y, en el fruto, a partir de los restos vegetales que quedan adheridos al mismo. Por orden creciente de importancia, las partes más susceptibles a la infección son ramificaciones secundarias, flores y frutos atacados por el pedúnculo.

Las manifestaciones epidémicas suelen ser explosivas cuando se dan las condiciones óptimas de humedad relativa y temperatura y hay niveles reducidos de luz en los invernaderos (días nublados). Por ello resultan poco eficaces los tratamientos con fungicidas en aplicaciones curativas, debiéndose recurrir a intervenciones preventivas para evitar o para paliar los daños. La desinfección de los suelos con bromuro de metilo se ha demostrado eficaz en el control de estas enfermedades al eliminar el inóculo del suelo que es el primer paso del proceso infeccioso. También lo han hecho la biofumigación con solarización, aunque son frecuentes las reinfecciones de *Botrytis* con el material de plantación si los semilleros no son cuidadosos.

De las alternativas químicas al bromuro de metilo ensayadas en cultivos de pimiento en invernadero, la mezcla de 1,3-D+Pic. se ha mostrado tan eficaz como el bromuro de metilo (LACASA *et al.*, 2002b). No se dispone de resistencias a estas enfermedades en pimiento, por lo que el control queda supeditado a la efi-

cacia de la desinfección del suelo y al manejo de las condiciones ambientales en el invernadero (TORÉS, 1994), aplicando los métodos predictivos del riesgo de ataques (TURKINGTON *et al.*, 1991).

D) OTROS HONGOS DEL SUELO

Tanto *Rhizoctonia solani* como *Phyitium* spp. (tipo *aphanidermatum*) provocan daños en plantas jóvenes de pimiento, pero no parece estén implicados en procesos patológicos de plantas desarrolladas en las plantaciones del Campo de Cartagena (TELLO y LACASA, 1997).

Este hongo junto a *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. roseum*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. o *Rhizopus* spp. aparecen frecuentemente asociados a lesiones en el sistema radicular de plantas de pimiento que vegetan deficientemente o que presentan marchitamientos ligados a fenómenos de asfixia radicular o de cuello (TELLO *et al.*, 1987). Estos hongos podrían producir enfermedades subclínicas (TELLO y LACASA, 1997), cuando las densidades de inóculo en el suelo fueran muy elevadas o la vegetación de la planta se viera comprometida por causas abióticas.

Al inocular algunos aislados de las especies de *Fusarium* mencionadas, ALFARO y VEGH (1971) no encontraron relaciones patogénicas de estos hongos con el pimiento, pese a haberlos obtenido de plantas afectadas de marchitez en los cultivos del Valle del Ebro. Similares situaciones se han descrito en otras partes del mundo donde los pimientos se afectan de "tristeza" o "seca", considerando que su acción sobre las plantas no tendría una manifestación clínica definida.

BLACK *et al.* (1991) indican que estos hongos son responsables de impedir la germinación de semillas así como de causar el marchitamiento repentino de plántulas de pimiento en cuanto comienzan a emerger. Apuntan que la enfermedad tiene como resultado la muerte de plántulas después de su germinación pero antes de que emerjan del suelo. Asimismo, afirman que este complejo de hongos son habitantes del suelo cuya actividad se ve incrementada por la materia orgánica no descompuesta presente en el suelo y la alta humedad.

La reiteración ininterrumpida del pimiento en el mismo suelo (cosa habitual en la Región de Murcia) va acompañada de un descenso en los rendimientos productivos, incluso en aquellos suelos no contaminados por patógenos. La reducción que supera el 20% de la cosecha el primer año de reiteración y más del 40% el segundo (LACASA y GUIRAO, 1997). Este efecto resulta específico para el pimiento (GUERRERO *et al.*, 2002; 2004c) y desaparece tras una desinfección del suelo con productos fitosanitarios totales, por lo que la causa parece tener naturaleza biótica (MARTÍNEZ *et al.*, 2002; YÉLAMOS *et al.*, 2002).

Al estudiar la microbiota fúngica que se asocia a la rizosfera de las plantas de pimiento en suelos con diferente historial de cultivo y distintas formas de desinfección, MARTÍNEZ *et al.*, (2004; 2004a; 2004b) encuentran una acumulación progresiva de *F. solani*, *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.* a medida que transcurre el cultivo, permaneciendo altas densidades de inóculo al inicio del cultivo siguiente en los suelos no desinfectados y siendo muy reducidas las densidades cuando se desinfecta con productos fitosanitarios totales (bromuro de metilo, 1,3-D+Pic. o cloropicrina sola). La acumulación de *F. solani* en los suelos cultivados parece ser la tónica general, sobre todo en cultivos de solanáceas (TELLO y LACASA, 1990), sin que se tengan pruebas de implicaciones patogénicas directas.

La mezcla de 1,3-D+Pic. se ha mostrado tan eficaz como el bromuro de metilo en la eliminación de la microbiota implicada en los fenómenos de fatiga del suelo, al obtener similares niveles productivos, incluso cuando se reitera la aplicación en el mismo suelo (LACASA *et al.*, 2004).

La biofumigación con solarización también reduce las densidades de los hongos mencionados cuando se reitera más de dos veces consecutivas en el mismo suelo (MARTÍNEZ *et al.*, 2004c), lo que se traduce en niveles productivos similares a los obtenidos con bromuro de metilo (GUERRERO *et al.*, 2004d). El alto vigor conferido por los patrones a las plantas palia los efectos de la fatiga el primer año, pero se llegan a manifestar de forma específica cuando se reitera el cultivo en el mismo suelo más de dos años (LACASA *et al.*, 2002; ROS *et al.*, 2004a) necesitando de la desinfección del suelo en preplantación para paliar los efectos (ROS *et al.*, 2004d).

1.1.5.3. Enfermedades producidas por nematodos

Gran parte de los suelos del Campo de Cartagena, se encuentran colonizados o albergan importantes poblaciones de nematodos fitopatógenos del género *Meloidogyne*. El pimiento es susceptible al parasitismo de varias especies de este género, como el que realizan *M. incognita*, *M. javanica* o *M. arenaria*. Mientras que las dos últimas especies no se ha detectado causen daños en el cultivo de pimiento en el Campo de Cartagena, *M. incognita* sí que está implicado en la reducción de rendimiento de las plantas.

Según BELLO y TELLO (1997), el género *Meloidogyne* en ambientes mediterráneos sería el único que podría necesitar del tratamiento con bromuro para su control, pues los individuos pertenecientes a los géneros *Ditylenchus* y *Pratylenchus* se hallan muy localizados y pueden controlarse con nematicidas convencionales. De esta forma, la retirada del bromuro de metilo afecta en gran medida al control de los nematodos formadores de nódulos como *M. arenaria*, *M. javanica* y *M. incognita*, cuya área de riesgo se encuentra en el litoral mediterráneo, sur de la península, Baleares y Canarias (BELLO *et al.*, 2004).

1.2. LA FATIGA DEL SUELO: CAUSAS Y COMPONENTES

Se considera fatiga o cansancio del suelo un conjunto de manifestaciones que se dan en un cultivo cuando éste se reitera en el mismo suelo durante un tiempo prolongado. El fenómeno se traduce básicamente en una reducción del desarrollo de las plantas y una disminución de las producciones obtenidas, los aspectos con más repercusión, pero además, la sintomatología puede venir acompañada de amarilleos en el follaje y enanismo de las plantas. BOUHOT (1983) la define como la perturbación de la fertilidad del suelo debida a causas múltiples que pueden ser acumulativas, sucesivas o simultáneas; considerando CEBOLLA y MAROTO (2004) se manifiesta por un crecimiento deficiente y anómalo de la planta, así como una pérdida de producción en sistemas de cultivo continuado como huertos replantados y monocultivos en huerta y ornamentales.

Las causas que la originan son numerosas y de relaciones variables, pues la composición química y biológica así como las propiedades físicas de los suelos ejercen influencia sobre el entorno de la rizosfera, donde tienen lugar las interacciones de la plantas con los seres vivos circundantes, que parecería serían los delimitantes de las actividades fisiológicas básicas de la planta, y por extensión, del cultivo.

El balance de los procesos que tienen lugar a nivel rizosférico puede ser favorable o desfavorable para la planta, determinando la aparición de efectos depresivos cuando las modificaciones resultan desfavorables para la misma o para el cultivo. Tales efectos depresivos aparecen cuando las modificaciones producidas por la reiteración del cultivo afectan a:

- Las propiedades físicas del suelo, ya sea por las labores culturales o por la acción de sustancias químicas que se le incorporan y que alteran su estructura. Como ejemplo, la adición de cloruro sódico que provoca la rotura de las partículas sólidas del suelo encargadas de retener el agua de forma disponible para las plantas.
- Las propiedades químicas, pues la acumulación o deficiencia de elementos o moléculas en el suelo, provoca alteraciones en las plantas que suponen reducciones del rendimiento productivo del cultivo. Si dichos compuestos no se reponen siendo esenciales para el correcto desarrollo de la planta, se provocaría una situación de deficiencia o carencia y la subsiguiente fisiopatía. Asimismo, si son aportados en exceso sin ser extraídos por el cultivo, se pueden provocar estados carenciales por bloqueo con otros elementos esenciales para la planta.
- La componente microbiológica, donde conviene distinguir entre la acumulación de organismos que se comportan como patógenos del suelo o no

patógenos cuya relación con la planta no es del todo conocida y no se corresponde con la apariencia en la planta de enfermedad o anormalidad. Éstos últimos podrían establecer relaciones de competencia por la ocupación del suelo, por el alimento disponible y por la colonización de los restos vegetales.

Por lo que, al desinfectar un suelo, la actuación sobre los microorganismos patógenos sería más evidente al no manifestarse los síntomas de la enfermedad, pero no lo es tanto sobre los no patógenos o parásitos de la planta. La acción de estos organismos sobre la planta se ejerce directamente, entrando en competencia con ésta o bien, indirectamente, al actuar el organismo sobre otro que incide sobre la planta.

En la bibliografía encontramos diversos estudios que hacen referencia a la fatiga de suelo. Tal es el caso de cultivos de frutales como manzanos, melocotoneros, parrales, cerezos y ciruelos que son propensos a padecer fatiga de suelo si se replantan en el mismo suelo sucesivamente. Sin embargo, se recobran de su fatiga si se replantan en suelos nuevos.

Los síntomas difieren de un cultivo a otro y el síndrome de la enfermedad ha sido a menudo referido por franceses (BOUHOT, 1983), canadienses, alemanes y estadounidenses.

Los desórdenes de las plantas pueden atribuirse a deficiencias nutricionales, a microorganismos patógenos cuya identidad está aún pendiente de establecer y a fitotoxinas secretadas por las raíces de las plantas o por descomposiciones microbianas de residuos de plantas.

Un efecto acumulativo de uno o más factores también pueden ser responsables del síndrome de la enfermedad. Sirva de ejemplo el cultivo del melocotón en California, al que se le atribuye el fallo en su cultivo a la fitotoxina producida por los residuos del cultivo anterior. El glucósido contenido en la corteza de las raíces del árbol se convierte en componentes tóxicos como benzaldehído y cianamida de hidrógeno mediante la intervención de microorganismos del suelo (SUBBA RAO, 1999).

En lo concerniente a los cultivos intensivos realizados en invernadero, ZAPATER (1989) se refiere al fenómeno del cansancio al aludir a la carencia de rotaciones de cultivo. Asimismo, atribuye la fatiga a "determinados organismos causantes de la misma".

CEBOLLA y MAROTO (2004) apuntan a que una de las hipótesis que podría causar la fatiga se debiera a un desequilibrio microbiológico en el suelo que conduce al establecimiento de microorganismos perjudiciales en detrimento de los beneficiosos.

Estudios llevados a cabo por GUERRERO *et al.* (2002; 2004d) para conocer si las características del efecto depresivo producido por la fatiga en suelos con distintos grados de reiteración del cultivo eran específicos del pimiento, se comprobó que sí, frente a ensayos con apio o lechuga; cuanto más drástica era la desinfección del suelo, mayor era el desarrollo de la planta de pimiento en tanto que era lo contrario cuando se utilizaban las otras especies como indicadoras. Además, las respuestas se acentuaron en los suelos donde mayor era la reiteración del monocultivo de pimiento.

1.3. EL CONTROL DE LAS ENFERMEDADES DE SUELO EN CULTIVOS DE PIMIENTO REALIZADOS EN INVERNADERO

El control de los patógenos no supone una tarea nada sencilla, y aún lo es menos cuando abordamos el control de los patógenos telúricos, especialmente en sistemas de producción intensiva. Las estrategias de control tradicionalmente recomendadas en determinados cultivos, como la rotación, son de difícil aplicación en el sistema de producción del cultivo de pimiento en la Región de Murcia, por su alto grado de especialización, a nivel de zona, en la oferta comercial.

La desinfección con productos químicos y no químicos es en la actualidad, la práctica más habitual de control de las patologías del suelo en la mayoría de cultivos hortícolas, y en mayor medida, sin duda, para el caso del pimiento que es un monocultivo en la zona considerada.

Estas prácticas, son eficaces, cuando se realizan de forma adecuada, permitiendo la eliminación total o parcial de los patógenos del medio hasta unos 35 cm de profundidad. La eficacia puede quedar en entredicho al considerar la durabilidad del proceso: lo que ha llevado en el caso del cultivo del pimiento en Murcia a una dinámica de reiteración campaña tras campaña del uso del bromuro de metilo hasta su prohibición.

La desinfección del suelo de cultivo, crea un vacío biológico después de la desaparición casi total de la microbiota presente, que permite la rápida recolonización de los fitopatógenos supervivientes o de otros introducidos accidentalmente. Sirva de ejemplo como la aportación de materia orgánica para la realización de la desinfección que ha hecho resurgir una práctica algo perdida en la agricultura.

1.3.1. La desinfección y los desinfectantes

En más del 90% de los invernaderos del Campo de Cartagena y sur de la provincia de Alicante, el pimiento es un monocultivo desde el inicio de esta acti-

vidad productiva. Como consecuencia de la intensidad del mismo, la desinfección del suelo se ha venido realizando para evitar la fatiga del suelo y para reducir la incidencia de los principales patógenos del suelo que afectan al cultivo, *Phytophthora capsici* y *Meloidogyne incognita*.

Los desinfectantes que se han venido utilizando en el cultivo del pimiento fueron en los años 70, el metam sodio (Vapam), el dicloropropeno (Telone) y fungicidas o nematocidas de aplicación al suelo. A finales de los 70, se introdujo en España el bromuro de metilo, extendiéndose su empleo en la zona durante los 80. Es a partir de 1988 en concreto (LACASA y GUIRAO, 1997), cuando la desinfección del suelo con bromuro de metilo era una práctica de cultivo más, ya que se realizaba en todos los invernaderos que habían tenido plantas de pimiento la campaña anterior e incluso en los de nueva construcción. Su gran actividad biocida, reduciendo el inóculo de los patógenos y manteniendo el nivel productivo del suelo, la facilidad de su aplicación, la rapidez de su acción, etc., vino justificando su empleo.

La formulación de bromuro de metilo empleada tradicionalmente ha sido la 98:2 (Bromuro de metilo y cloropicrina), aplicado sin calentar, a dosis en torno a 60 g·m⁻², sellando previamente el suelo con polietileno de 200 GG (50 micras).

1.3.1.1. El bromuro de metilo y la problemática de uso

El bromuro de metilo (CH₃Br) es un fumigante empleado a nivel mundial en la agricultura durante los últimos 50 años para el control de insectos, nematodos, patógenos y algunas semillas de malas hierbas (BELL, 1996; KATAN, 2005). Desde el descubrimiento de su efectividad contra patógenos de origen edáfico allá por la década de los años 30 del siglo pasado, su empleo se fue extendiendo hasta alcanzar un gran apogeo en la década de los setenta en los países de Centroeuropa, y llegando por entonces al litoral mediterráneo.

Se emplea para desinfectar el suelo antes de la plantación de muchos cultivos, especialmente hortícolas y ornamentales, para el tratamiento post-cosecha de instalaciones para el almacenamiento previo al transporte y para realizar tratamientos de cuarentena para prevenir la diseminación de plagas entre fronteras internacionales.

Al igual que muchos otros fumigantes, posee riesgos para la salud humana (ABU AMRIEH *et al.*, 1999; BURGESS *et al.*, 2000; CALVERT *et al.*, 1998) y el medio ambiente, incluyendo a la microbiota del suelo (PELAGATTI *et al.*, 1998).

Cuando el bromuro de metilo se descompone por radiaciones solares, se libera en la estratosfera un radical bromo que atrae uno de los átomos de oxígeno fuera del ozono para formar monóxido de bromo y oxígeno molecular. Tras una serie de complejas reacciones, el bromo se libera para destruir otra molécula de ozono.

El bromo del bromuro de metilo es alrededor de sesenta veces más efectivo destruyendo la capa de ozono que el cloro de los clorofluorocarbonos (CFCs), el más conocido entre los compuestos que dañan el ozono.

Hasta el año 2005, alrededor de 71.500 toneladas de bromuro de metilo se consumían anualmente en todo el mundo. El 90% se empleaba para la fumigación. El 75% se empleaba en los países desarrollados, entre los que Norteamérica se situaba como el mayor consumidor (75%) seguido por Europa (24%). El mayor empleo ha sido para la desinfección del suelo (70%), del que la mayoría (80%) ha sido consumida por 5 países desarrollados (EEUU, Italia, Japón, Israel y España).

Debido a las consecuencias dañinas derivadas del uso del bromuro de metilo, los gobiernos negociaron, a través del Programa de Medio Ambiente, de las Naciones Unidas, la Convención de Viena para la Protección de la Capa de Ozono en 1985. En 1987, se consolidó mediante el Protocolo de Montreal sobre sustancias que destruyen la capa de ozono, cuyos objetivos se dirigían a reducir y eventualmente eliminar las emisiones provocadas por el hombre, congelándose su consumo a partir de 1995. Fue entonces cuando se creó el Methyl Bromide Technical Options Committee (MTOC), con el objetivo de encontrar alternativas al uso del fumigante. Los acuerdos de la reunión del PM se aplicaron en los países de la Unión Europea mediante el Reglamento CE 3.093/94, en el que se estableció una reducción del 25% del consumo a partir de 1998, siendo 172 los países que han ratificado el protocolo.

El bromuro de metilo llegó a ser como una sustancia controlada bajo una enmienda adoptada en Copenhague en 1992. De esta forma, los países desarrollados, se comprometieron a realizar un programa de reducciones progresivas en el consumo, eliminándose en 2005, mientras que en los países en vías de desarrollo, la fecha de eliminación se ampliaba a 2015.

La fecha de eliminación del bromuro de metilo en 2005 ha traído una de las mayores crisis en la agricultura intensiva. La especialización en un pequeño número de cultivos en cada región, conduce a frecuentar la repetición del mismo cultivo. Este hecho provoca la aparición de poblaciones de agentes patógenos difíciles de eliminar si no se realiza la desinfección de suelo (KATAN, 2005).

El bromuro de metilo llegó a ser la mayor herramienta para la desinfección de suelo, gracias a su gran efectividad, entre otras propiedades (KATAN, 1999; GULLINO *et al.*, 2003). Su eliminación forzó en su día a la comunidad científica agrícola a buscar alternativas urgentemente, las cuales debían de ser efectivas, respetuosas con el medio ambiente, fáciles en su aplicación y viables económicamente. De no ser así, ciertos cultivos tendrían que ser abandonados o sustituidos por otros. Por todo ello, el desarrollo de alternativas viables ha llegado a ser el mayor reto

para la comunidad de investigadores, personal de extensión agraria, políticos así como para el sector privado.

La desinfección de suelo es un método relativamente caro y sofisticado pero eficaz para erradicar patógenos de suelo empleando métodos drásticos para tratar el suelo. Se emplea normalmente en cultivos protegidos de gran valor y algunas veces también al aire libre. La necesidad de la desinfección radica en el hecho de que la plantación repetida del mismo cultivo en el suelo causa un detrimento de los factores biológicos, químicos y físicos del suelo, conduciendo a una reducción de la producción y de la calidad e incluso a la destrucción completa del cultivo.

El objeto de la desinfección no sólo es controlar las enfermedades de las plantas sino también mejorar el estado de las plantas y reestablecer los altos niveles de producción. Estos objetivos cobran especial importancia en regiones donde las opciones de cultivo y la disponibilidad de tierra son limitadas (GULLINO *et al.*, 2000a).

Desde que se descubrieran los efectos del bromuro de metilo en la destrucción de la capa de ozono, las alternativas a su empleo han sido objeto de su estudio en numerosos países (GULLINO *et al.*, 2000b). Sin embargo, en la mayoría de casos, la búsqueda de alternativas se ha basado en la disponibilidad de las mismas, de investigadores y de recursos. La mayoría de alternativas que se han llevado a la práctica, son notablemente químicas. La crisis en el empleo del bromuro de metilo habría sido una oportunidad única para introducir acercamientos no químicos a la desinfección a gran escala, pero estos se han realizado parcialmente.

Los esfuerzos por desarrollar alternativas viables químicas y no químicas continúan realizándose, aunque algunas tengan ciertas connotaciones técnicas que es preciso poner a punto para su aplicación comercial (GUERRERO *et al.*, 2004).

Muchos fumigantes (algunos de antiguo uso) han sido de nuevo reevaluados. Estos incluyen el metam sodio, la cloropicrina, la formalina, el dicloropropeno, el metil yoduro y varios nematocidas y fungicidas.

Además de las alternativas químicas, muchas otras han sido y están siendo probadas: estas incluyen el empleo de cultivares resistentes, la solarización (sola o combinada con otros métodos de control de patógenos del suelo), la biofumigación, la biosolarización, el compostaje, el injerto, agentes de biocontrol, etc.

1.3.1.2. Las alternativas al bromuro de metilo y su aplicación

La F.A.O., en el año 1997, tomando como referencia el bromuro de metilo, exigió cuatro requisitos a un desinfectante de suelo: eficacia técnica en el control de patógenos, respeto por el medio ambiente, facilidad de aplicación y bajo coste.

Con motivo del calendario de reducción para la producción y el consumo de BM, planteado a finales de 1995, en la VIII Reunión del PM, fijado en un 25% en el 2001, un 50% en el 2005 y un 100% a partir del 2010 para los países desarrollados, se iniciaron trabajos y ensayos encaminados a encontrar alternativas al uso de este desinfectante que fuesen respetuosas con el medio ambiente y viables económicamente.

El primero de los objetivos planteados fue intentar ajustarse a los calendarios de producción manteniendo las superficies desinfectadas. Las formas de reducción, consistieron en una disminución de la cantidad de materia activa en la formulación, así como en el empleo de plásticos que fueran mucho más impermeables. De esta forma, se emplearon formulaciones con un menor contenido en bromuro de metilo (67% BM y 33% de cloropicrina), y plásticos de sellado especiales (VIF), mucho más impermeables que el polietileno (PE). Este último hecho, permitió reducir las emisiones a la atmósfera, manteniendo la eficacia de las aplicaciones (GILREATH *et al.*, 2004; LACASA *et al.*, 2004).

Pero es a partir de la IX Reunión del PM, cuando se establece el calendario definitivo de retirada para los países desarrollados: reducción del 25% en 1999, del 50% en 2001, del 70% en 2003 y eliminación total en el 2005. El Reglamento de la Comisión Europea CE 2037/00 aplica los acuerdos de forma más estricta, pues aumenta la reducción del año 2001 al 60% y la del 2003 al 75%.

A) ALTERNATIVAS QUÍMICAS

Se debe señalar que ninguno de los desinfectantes químicos empleados, se muestra por sí solo como una alternativa que proporcione resultados similares a los obtenidos con el bromuro de metilo. Sin embargo, la asociación o su combinación con métodos no químicos pueden proporcionar niveles de eficacia equiparables con el bromuro de metilo. La deficiencia en la penetración del o de los productos en el suelo, la uniformidad en la distribución o la escasa dispersión, condicionan la efectividad del desinfectante.

METAM SODIO

Es la sal sódica del ácido metilcarbámico. Una vez aplicado, y cuando el suelo se encuentra entre los 10-15°C, se transforma en metilisotiocianato, compuesto responsable de la actividad fungicida, nematocida, herbicida e insecticida. Controla hongos e insectos, teniendo escasa eficacia contra nematodos. Para su aplicación, se diluye en agua con objeto de que desprenda el isotiocianato de metilo (RECHE, 1991).

El metam sodio ha sido ampliamente empleado para cultivos hortícolas en España (POCINO, 1997; 1998a; 1998b; LAITA, 1998, 2000), llegándose a utilizar de forma asidua cuando el cultivo de pimiento en invernadero se extendió por el Campo de Cartagena (CENIS y FUCHS, 1988; LACASA y GUIRAO, 1997), con resultados fallidos para el control de los patógenos (TELLO y LACASA, 1997; 2004) por lo que se generalizó el uso del bromuro de metilo.

Para SULLIVAN (2000), LOCASCIO y DICKSON (2001) su efectividad, depende del contacto del desinfectante con los organismos objeto de la desinfección, entendido aquél como el producto de la concentración por el tiempo de exposición, pero además establece dos requerimientos fundamentales: uno es reconocer que los métodos de aplicación necesitan compensar que existe mayor difusión del biocida respecto al bromuro de metilo, y el otro, es que se deben emplear sistemas de sellado eficaces para minimizar las pérdidas por volatilización del metil isotiocianato, la clave del poder biocida. De esta forma se mantiene durante 3-4 semanas reteniéndose así el metil-isotiocianato más tiempo, aumenta la temperatura del suelo y mejora su distribución. Su aplicación resultó ser más eficaz cuando se realizaban riegos intermitentes bajo el plástico para facilitar el sellado y el plástico VIF fue el que menos pérdidas por volatilización presentó. POCINO (1997) y LAITA (1998) corroboran su eficacia cuando se combina con la solarización, aunque ellos trabajaron cubriendo el suelo con una lámina de plástico de polietileno.

La dosis de aplicación oscila entre 500 y 1.500 l·ha⁻¹, aunque cuando se requiere una acción herbicida, las dosis de empleo son más elevadas. Cuando se aplica a invernaderos con bajos niveles de infestación del suelo por patógenos y con pocos años de antigüedad en el cultivo reiterado, se pueden obtener aceptables resultados, como han señalado los autores POCINO (1997; 1998b) y LAITA (1998) en pimiento, tomate, berenjena y pepino.

No obstante, la eficacia disminuye cuando se reitera la aplicación en el mismo suelo de forma continuada, al parecer, la descomposición microbiológica del compuesto se presenta al cabo de dos o tres aplicaciones (GAMLIEL *et al.*, 2000).

DAZOMET

Desinfectante que habitualmente ha sido recomendado para el control de nematodos, hongos del suelo y malas hierbas. Se formula en gránulos y estos se aplican al suelo previamente labrado. Con un rotovator se incorpora al suelo, para luego cubrirlo con plástico (GUIRAO *et al.*, 2004).

La eficacia de este desinfectante depende de la uniformidad de su distribución en el suelo. Además, la disgregación en el suelo y el nivel de temperatura deben ser

adecuados. Se necesita del sellado con un riego abundante para mejorar la distribución (MAROTO, 1989), pues su efectividad depende de la descomposición microbiana y de la liberación de metilisotiocianato y otros compuestos químicos efectivos contra los microorganismos, siendo escasa su actividad insecticida o sobre las semillas no germinadas de las malas hierbas (RODRÍGUEZ-KÁBANA, 1998; MAROTO, 1989).

Los resultados obtenidos en ensayos llevados a cabo en invernaderos de pimiento por Ros *et al.* (2004) confirman que el producto no es equiparable a los obtenidos con el bromuro de metilo, tanto en invernaderos con problemas fitopatológicos de suelo, como sin ellos. La eficacia parece depender de la uniforme distribución del producto en el volumen de suelo (MBTOC, 1997; SCHROEDER, 1998). La degradación del producto que tiene lugar en el suelo, se acelera cuando se reitera la aplicación del desinfectante (DI PRIMO *et al.*, 2001) así como se produce una pérdida de la eficacia en el control de patógenos fúngicos.

CLOROPICRINA

Se trata de un derivado halogenado en forma líquida al que se le atribuyen efectos fungicidas, unas veinte veces más efectivo que el bromuro de metilo, y bactericidas, y, en menor cuantía, efectos nematocidas o herbicidas (RODRÍGUEZ-KÁBANA 1998; GULLINO, 2000). GUERRERO *et al.*, (2004) apuntan que en suelos cultivados habitualmente de pimiento, la cloropicrina presentó mayor eficacia fungicida que la mezcla de 1,3-Dicloropropeno + cloropicrina.

Habitualmente, se ha aplicado mezclada con bromuro de metilo o sola, por inyección al suelo, cubriéndolo con plástico, siendo relativamente reciente su utilización en la desinfección de suelos (VAN BERKUM y HOSTRA, 1979; GULLINO, 2000). En el cultivo del pimiento, GUERRERO *et al.* (2004), advierten que la cloropicrina proporciona similares niveles de control de *P. capsici* y de malas hierbas que el bromuro de metilo pero una eficacia inferior frente a *M. incognita*.

MEZCLA DICLOROPROPENO + CLOROPICRINA

El 1,3-Dicloropropeno, de marcada actividad nematocida, es uno de los compuestos más utilizados en la desinfección de suelos contaminados por diferentes hongos fitopatógenos (SOLER, 1997; EGER, 2000). Se formula en forma de líquido inyectable y de líquido emulsionable, permitiendo así que se aplique en el agua de riego. La actividad desinfectante de este nematocida, suele completarse con la de la cloropicrina, de efectos fungicidas y bactericidas.

Los dos productos se difunden en forma de gas, dada la alta presión de vapor de ambos (MBTOC, 1997). Se degradan con facilidad tanto en el aire como en el

suelo, por hidrólisis, fotodecomposición o metabolización (AGUIRRE, 1998) y la mezcla presenta posibilidades de ser un sustituto del bromuro de metilo, a expensas de la autorización definitiva por parte de la Comisión Europea.

La aplicación de la mezcla de 1,3-Dicloropropeno+cloropicrina en el agua de riego bajo plástico de polietileno se ha mostrado como una alternativa al bromuro de metilo. Proporciona un buen control de *Phytophthora capsici*, de malas hierbas y un control aceptable de *Meloidogyne incognita* (GUERRERO *et al.*, 2004). La reiteración de la aplicación en el mismo suelo mejora la efectividad de la desinfección, incluso supone mejoras en la producción.

En los trabajos desarrollados por GUERRERO *et al.*, (2004), la mezcla de 1,3-Dicloropropeno + cloropicrina proporcionó niveles de control de *M. incognita* similares al bromuro de metilo en todos los invernaderos ensayados. Con una adecuada aplicación, lo mismo sucedió en el control de malas hierbas y de *Phytophthora capsici*. La efectividad de la desinfección se mantiene cuando se reitera la aplicación en el mismo suelo de forma reiterada (GUERRERO *et al.*, 2006).

B) ALTERNATIVAS NO QUÍMICAS

BIOFUMIGACIÓN

La biofumigación se define como “la acción fumigante de las sustancias volátiles procedentes de la descomposición de la materia orgánica y de los residuos agroindustriales en el control de los patógenos de las plantas, incrementándose su eficacia cuando se incluyen en un sistema integrado de producción de cultivos” (BELLO *et al.*, 2004). Se diferencia del uso de las enmiendas orgánicas en las características de los materiales biofumigantes y en el método de aplicación (BELLO *et al.*, 1999).

Su efectividad se incrementa cuando se incorpora en un sistema de manejo integrado, prolongando su efecto en el tiempo mediante rotación de cultivos, uso de barbechos, variedades resistentes, injertos, solarización, y, en general, prácticas culturales como la época y modo de siembra, labores, manejo del agua, cubiertas, control sanitario, empleo de sustratos naturales y artificiales, utilización de agentes biológicos de control e incluso bajas dosis de plaguicidas (MBTOC 1998; BELLO *et al.*, 2000a; 2000b).

Se basa en los mismos principios que los fumigantes convencionales, sólo que, los gases generados proceden de la descomposición de la materia orgánica, obteniendo un efecto mejorador de los organismos del suelo o de aquellos que se encuentran en la propia materia orgánica, no conociéndose efectos negativos sobre el ambiente y la salud (BELLO, 1998; DE CARA *et al.*, 2004). Es además una técnica de fácil aplicación y bajo coste (PERDOMO *et al.*, 2000).

Según BELLO *et al.* (2004), como consecuencia del proceso, incrementa el número de nematodos saprófagos, mejora las características del suelo y la nutrición de la planta y se producen una secuencia de cambios microbiológicos, con una proliferación de microorganismos inicial que depende de los recursos añadidos. Los autores señalan la necesidad de diseñar una metodología para cada situación, diferenciándose en la aplicación de materia orgánica en cuanto a dosis y método de aplicación.

Se considera, también, que además de los efectos de los gases emitidos por la materia orgánica descompuesta, se producen reacciones de oxido-reducción que tienen efectos nocivos sobre los microorganismos patógenos o no (BLOCK *et al.*, 2000). Según los mencionados autores, el proceso vendría a quedar explicado así: en un suelo recientemente inundado, la tasa de consumo de oxígeno por parte de los microorganismos es más alta que la difusión y los microorganismos aerobios consumen todo el oxígeno, al agotarse éste, se reduce su población casi a cero y comienzan a aumentar los microorganismos anaerobios que llevan a cabo la descomposición de la materia orgánica utilizando compuestos oxidados del suelo (óxidos de manganeso, nitratos, etc.) para su respiración. La cantidad de oxígeno va disminuyendo desde la superficie del agua hasta las capas profundas del suelo. En la parte superior de un suelo cubierto por una lámina de agua encontramos una capa oxidada de suelo de más o menos 1 cm de espesor, donde la difusión del oxígeno es suficiente para el consumo de los microorganismos. Dentro de esta capa la concentración de oxígeno en suelo no es constante, varía entre la saturación en la superficie hasta casi cero. Como resultado de estos procesos, suceden en el suelo cambios de pH, disminución del potencial redox y aumento de la conductividad eléctrica (KJAER, 1976).

Puede realizarse partiendo de un material orgánico fresco, ya sea estiércol poco hecho, restos frescos de cosecha, verdes o residuos de la industria agroalimentaria ricos en compuestos orgánica. Una vez que se dispone del material, se distribuye por el suelo y se mezcla con el mismo mediante una labor superficial de aproximadamente 30 cm.

Escoger un buen material biofumigante es esencial para el buen resultado del proceso, pues hay estiércoles más efectivos que otros. El mejor es el de ovino-caprino, seguido del equino y del vacuno. La gallinaza y purines conviene mezclarlos con algún resto vegetal rico en carbono. Cuando se emplean restos vegetales como material biofumigante, conviene realizar un troceado que se suele hacer con la fresadora a la par que se mezcla con el suelo.

Su aplicación presenta buenos resultados en cultivos de cucurbitáceas, zanahoria, tomate, pimiento, fresón, platanera, cítricos, frutales, viñedos y flor cortada en diferentes ambientes de la región mediterránea.

SOLARIZACIÓN

La solarización se define como la desinfección hidrotérmica del suelo empleando energía solar para calentarlo, previamente humedecido y cubierto con una lámina de polietileno transparente, en los meses de mayor calor durante un período que puede oscilar entre las 4 y 6 semanas, en función de la latitud (CENIS, 1988; PERDOMO *et al.*, 2000). El proceso se debe a la energía solar que es retenida en las capas más superficiales, como diferencia entre la radiación transmitida y la emitida a través de la cubierta de plástico que cubre la superficie del suelo húmedo (BASALLOTE *et al.*, 1994).

Su uso, apuntan, está especialmente indicado en el área mediterránea donde los meses de verano son secos y se alcanzan temperaturas elevadas.

En 1939, Groshevoy fue el primero en constatar la posibilidad de control de ciertos patógenos en un suelo desnudo mediante el calor solar. En 1976, en Israel, es donde se describiría el procedimiento por KATAN (1976) que, con modificaciones, se ha ido popularizando como método de control de patógenos.

Con este método, BASALLOTE *et al.* (1994), aseguran que se consigue una desinfección del suelo que inactiva térmicamente o debilita muchos organismos del mismo. Sin embargo, otros organismos, con frecuencia, de naturaleza saprofítica, sobreviven al proceso y colonizan el suelo evitando la fácil reinfestación que se provoca cuando se crea un vacío biológico con métodos más drásticos como la desinfección química.

El suelo debe ser preparado con anterioridad para que el tratamiento resulte homogéneo. Se ha comprobado (DE CARA *et al.*, 2004) que los mejores resultados se obtienen cuando se da un pase de disco a 25 cm de profundidad. A continuación, se colocan las mangueras de riego y se extiende el plástico transparente (generalmente de 0,05 mm) sobre la superficie del suelo procurando que quede bien sellado evitando así flujos de aire que pudieran reducir la temperatura del aire por debajo del plástico. Después se riega el suelo durante dos días, en tres ocasiones y se deja reposar por un período variable entre las tres y las cuatro semanas (GUERRERO *et al.*, 2004).

Según BASALLOTE *et al.* (1994), el polietileno transparente (PE) es, por sus características técnicas (gran transparencia a la radiación solar y escasa transparencia a la radiación del suelo, flexibilidad, resistencia y durabilidad) y económicas, el más adecuado para la solarización, bastando láminas finas (25-50 μm), menos costosas por su menor peso.

Para que el incremento de temperatura en un suelo solarizado sea eficaz frente a los organismos patógenos que suelen concentrarse en su capa superfi-

cial (0-30 cm), debe lograrse una acumulación térmica (que combina temperatura del suelo y tiempo de exposición), variable según la sensibilidad térmica del organismo de que se trate.

La época del año en la que mejores resultados se obtienen es en los meses del año con mayor radiación, cuando la temperatura del suelo alcanza fácilmente los 50°C en los primeros centímetros. Por ello, las condiciones ambientales típicas de los veranos en climas mediterráneos son las ideales para el proceso. La humedad del suelo es crítica por depender de ella la transferencia de calor y el mantenimiento de temperatura durante la noche, permitiendo el movimiento cíclico del agua en el suelo y las alteraciones gaseosas que facilitan el control de algunos organismos. El efecto que se obtiene con este tratamiento es pasteurizante, no creando un vacío biológico que pudiese acarrear otros efectos indeseables.

Asimismo, se trata de un método de control no peligroso, no tóxico, sencillo y económico que controla determinados patógenos de suelo y que es compatible tanto con la agricultura ecológica como en producción integrada.

Los resultados en suelos cultivados de pimiento en invernadero frente a nematodos han quedado en entredicho, dada la ineficacia de este método frente a organismos que se desplazan en profundidad. Los nematodos, por acción del calor, se desplazan a zonas más profundas y se incorporan de nuevo con el laboreo del suelo, aunque ALONSO *et al.* (2004) lo consideran como un método de control especialmente efectivo para los nematodos fitopatógenos en el cultivo de la patata. Según BELLO *et al.* (2004), puede resultar eficaz cuando se combina con bajas dosis de fumigantes comerciales.

BIOFUMIGACIÓN CON SOLARIZACIÓN (BIOSOLARIZACIÓN)

El empleo de láminas de plástico encima del suelo previene el escape de los gases generados con la biofumigación sola mejorando así el control de los patógenos (KATAN, 2005). Según GAMLIEL y STAPLETON (1993), el empleo de plásticos transparentes posibilita la combinación de la biofumigación con la solarización, lo que mejora el control de los patógenos.

Son numerosos los trabajos encontrados acerca de los efectos de la solarización o de la biofumigación solas sobre los hongos fitopatógenos del suelo, pero no ocurre lo mismo para los que tratan sobre la combinación conjunta de ambos procesos.

A nivel local, gracias a los trabajos desarrollados por LACASA *et al.* (1999; 2002) y GUERRERO *et al.* (2004), se tiene conocimiento de que el tratamiento, realizado en los meses de julio y agosto, en concreto, cuando la temperatura ambiental ronda los 40°C (LACASA *et al.*, 1999) tiene resultados similares al bromuro de metilo en la pro-

ducción y desarrollo de la planta. Demuestran que resulta eficaz cuando se mantiene durante 30-45 días el proceso en determinadas condiciones como un buen humedecimiento del suelo y un adecuado sellado del plástico.

También se han realizado trabajos específicos para pimiento en Norteamérica. CHELLEMI (2006) utiliza gallinaza (estiércol de pollo y serrín de pino) de granjas comerciales como enmienda orgánica, obteniendo buenos resultados en el control de los patógenos (*Phytophthora capsici* y nematodos de varios géneros) en plantaciones comerciales de Florida (EE.UU.). También fueron buenos los resultados obtenidos por LIRA-SALDIVAL *et al.* (2004) utilizando como enmienda orgánica el extracto de *Larea tridentata* en Saltillo (México).

Los ensayos realizados con multitud de variables, como diferentes años de antigüedad en el cultivo de pimiento, distinta problemática fitopatológica del suelo o la aplicación reiterada del tratamiento, reflejan que se produce una mejora en el control de patógenos y de la flora arvense, así como en las propiedades físicas y químicas del suelo (FERNÁNDEZ *et al.*, 2004a).

Prueba de ello, es la mejora en las características del suelo reflejadas en un aumento de la porosidad, o sea, de la aireación, mantenimiento del pH, aumento de la capacidad de intercambio catiónico, así como un aumento de los macro y los microelementos (FERNÁNDEZ *et al.*, 2004; 2004a; 2004b; GARBEVA *et al.*, 2004).

Es de destacar su importante aplicación en cultivos de pimiento en agricultura ecológica, siempre que se realice en las fechas indicadas y se utilicen enmiendas orgánicas adecuadas. También se presenta como una alternativa al bromuro de metilo en cultivos realizados bajo normas de producción integrada o en cultivos convencionales (GUERRERO *et al.*, 2004).

En ensayos de reiteración de la biofumigación con solarización con reducción de la enmienda orgánica aportada, se ha comprobado la sostenibilidad del método al reiterar la aplicación. Los resultados han demostrado que el desarrollo de las plantas de los tratamientos de biofumigación con solarización fueron similares, ligeramente inferiores o incluso superiores a los del bromuro de metilo, sin influir la reiteración (GUERRERO *et al.*, 2003).

INJERTO

Sobre la base experimental de los primeros ensayos realizados por MIGUEL (1997), el injerto es otra de las alternativas estudiadas por ROS *et al.* (2004), consistente en cultivar una planta sensible en el sistema radicular de otra que es resistente a la enfermedad objeto de control. Desde hace escasas campañas, se viene utilizando de forma comercial en el cultivo de pimiento.

Se viene estudiando el comportamiento de las plantas injertadas junto con otras alternativas, de tipo químico o no en invernaderos comerciales y experimentales frente a diferentes problemáticas fitosanitarias (Ros *et al.*, 2003).

El injerto se realiza en un semillero comercial, donde las variedades, en bandejas de 216 alvéolos y los patrones en bandejas de 150, se siembran en la misma fecha. Tanto el patrón como la variedad, se cortan en bisel y posteriormente, se unen las secciones mediante una pinza de plástico flexible. Los patrones se cortan por encima de los cotiledones y las variedades por encima, tratando de escoger similares secciones y de que encaje la misma inclinación. A continuación, las plantas injertadas, se ponen en una cámara a 25°C y 100% de humedad relativa durante al menos, una semana. Después, se trasladan a un invernadero con calefacción para que las plantas se aclimaten hasta el momento del trasplante.

Lo habitual es realizar la operación a finales de noviembre, principios de diciembre para así disponer de las plantas para realizar el trasplante a principios de enero, cuando se realizan habitualmente las plantaciones en la zona.

Produce un mejor control frente a *P. capsici* que frente a *M. incognita*, si bien es necesario utilizarlo en combinación con otras prácticas culturales, pues la repetición del mismo patrón en el mismo suelo durante al menos tres años, selecciona poblaciones virulentas de *Meloidogyne incognita* (LÓPEZ-PÉREZ *et al.*, 2004).

Así lo señalan Ros *et al.* (2004), que proponen una desinfección parcial del suelo que ayude al mantenimiento de los niveles poblacionales tanto cuantitativos (densidad) como cualitativos (agresividad y virulencia).

MEDIOS BIOLÓGICOS

El control biológico de los patógenos de las plantas está considerado actualmente como una sub-disciplina dentro de la patología de plantas, tal y como afirman PAULITZ y BÉLANGER (2001). Se trata de un fenómeno universal reconocido que ha sido estudiado sistemáticamente por la ciencia desde el siglo pasado pero que no fue hasta la década de los 60 del siglo XX cuando volvieron a retomarse las reuniones científicas que versaban sobre este tema. Sobre el control biológico de los microorganismos, existen numerosas publicaciones, la mayoría de ellas, de carácter descriptivo. En la actualidad, hay una enorme batería de productos comerciales disponibles para los productores que aseguran contener "organismos beneficiosos" capaces de reducir o eliminar los daños causados por patógenos.

Su empleo viene amparado por la búsqueda de métodos de control menos perjudiciales para el medio ambiente y con ello se pretende que dichos agentes

ejerzan una acción directa o indirecta sobre los causantes de la enfermedad o sobre su manifestación, consiguiendo así una reducción en la expresión de los daños (DE CAL, 2002).

Tal y como refieren PAULITZ y BÉLANGER (2001), en el caso de los Estados Unidos, la agricultura en invernaderos así como los cultivos protegidos ofrecen un nicho único para el desarrollo y empleo de estos agentes de control biológico. Más de la mitad de los 33 productos comerciales de biocontrol listados eran de aplicación en semilleros o invernaderos y muchos estaban desarrollados específicamente para actuar contra los patógenos de suelo *Pythium* y *Rhizoctonia*.

A nivel mundial, existen más de 80 productos para el biocontrol de patógenos. La mayoría de los cuales son formulaciones o de los hongos *Gliocladium-Trichoderma* o de las bacterias *Pseudomonas* y *Bacillus*. Sin embargo no todos estos productos están registrados como agentes de biocontrol, pero son comercializados como promotores del crecimiento de las plantas, estimuladores de las raíces o acondicionadores del suelo. Estas atribuciones les han capacitado para colocarse en el mercado con unas pruebas de toxicología menos rigurosas o de eficacia probada que les serían requeridas como protectores de las plantas. Estos productos incluyen en su formulación compuestos inorgánicos como SiO_2 , NaHCO_3 , constituyentes orgánicos como compost, compuestos homeopáticos y algunos, contienen microorganismos como *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* y *Pythium oligandrum*.

El éxito en el empleo, viene a ser muy contradictorio. Así, se comprueba en los trabajos realizados por GONZÁLEZ *et al.* (2002) in vivo en cultivos como el aguacate para el control de *Phytophthora cinnamomi* con productos de biocontrol como *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas capacia*, *Trichoderma harzianum* o *T. viridae*, donde ninguno fue capaz de controlar la enfermedad mientras que sí redujeron significativamente el crecimiento micelial de *P. cinnamomi* en condiciones in vitro en enfrentamiento en placa. Ejemplos como este se encuentran en la bibliografía consultada de forma abundante.

EMPLEO DE TRICHODERMA COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO

Trichoderma es un hongo ampliamente distribuido en la naturaleza que actúa como micoparásito, compite bien por el alimento y el espacio, produce antibióticos y posee un sistema enzimático capaz de atacar a una amplia gama de patógenos. Según HERMOSA (1998), la especie *T. harzianum* destaca como agente de control biológico de muchos hongos fitopatógenos, constituyendo una alternativa a los compuestos químicos de uso común en agricultura. Los trabajos de LLOBELL *et al.* (2000) han ido encaminados a conocer sus distintas formas de apli-

cación, ya sea vía foliar o directamente al suelo y su combinación con otros métodos de control como la solarización.

El hongo en cuestión ha sido probado en numerosos ensayos en invernadero y al aire libre. PAULITZ y BÉLANGER (2001) afirman que es capaz de colonizar todo el sistema radicular de la planta y persistir durante un largo período de tiempo cuando se aplica a semillas, al suelo del invernadero, pulverizado o en gránulos, o mediante el riego de surcos.

T. harzianum tiene numerosos mecanismos de acción, incluyendo el micoparasitismo vía producción de quitinasas, 1-3 gluconasas y 1-4 gluconasas, antibióticos, competición, solubilización de nutrientes inorgánicos de las plantas, resistencia inducida e inactivación de las enzimas de los patógenos implicados en el proceso infectivo.

Existen cinco grupos moleculares dentro de *T. harzianum*, de los cuales sólo tres incluyen cepas consideradas como buenos agentes de control biológico.

La controversia existente en la bibliografía acerca de los beneficios o inutilidad en el empleo de este hongo para el control de las enfermedades causadas por hongos de suelo se hace evidente. Además, conviene distinguir entre muchas de las publicaciones basadas en resultados obtenidos en laboratorio y los que proceden del campo. Así, mientras que algunos autores como PAULITZ y BÉLANGER (2001) postulan su eficacia frente a *Rhizoctonia solani* y *Pythium* en geranios o *Fusarium* en tomate, ELAD *et al.* (1983) frente a *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium aphanidermatum*, *Aspergillus niger* y *Macrophomina phaseolina* en diferentes cultivos, o FOURIE *et al.* (2001) cuando se hacen aplicaciones del formulado en viveros de vides contra *Phaeoniella* spp. y/o *Cylindrocarpon* spp., otros como CARDONA *et al.* (1997), afirman que bajo condiciones de campo, el control por parte de *Trichoderma* spp. sobre *M. phaseolina* es ineficiente independientemente del método de aplicación utilizado.

En los trabajos realizados por ELAD *et al.* (1983) en los que se compara la aplicación de *Trichoderma harzianum* aplicándola a las semillas, a la zona radicular, mediante el riego en los surcos o aplicado de forma general a toda la superficie de varios cultivos: judía, tomate, pimiento o cacahuete, aseguran que la aplicación ideal depende del patógeno asociado al cultivo y del momento de ataque, ya sea en estado de semilla, de plántula o de planta adulta. Aseguran además, de que el tratamiento con *Trichoderma* resulta más eficaz cuando se combina con otros métodos usualmente empleados para la desinfección del suelo: bromuro de metilo, metam sodio o solarización. Ahora bien, no queda aclarado que los beneficios se deban al supuesto efecto sinergista del hongo, o al desinfectante en sí.

PARTE II. UN ENFOQUE BIBLIOGRÁFICO SOBRE LOS HONGOS TELÚRICOS, CON ESPECIAL ÉNFASIS EN LOS HABITANTES DE LOS SUELOS AGRÍCOLAS

1.4. INTRODUCCIÓN

Si es necesaria la primera parte de esta introducción para presentar el modelo agrícola estudiado, estas notas micológicas aquí expuestas también lo son. Notas que pretenden ajustar el trabajo de tesis con las limitaciones impuestas por los conocimientos actuales.

El trabajo experimental contenido en esta memoria de tesis pretende alcanzar dos propósitos básicos:

- a) Conocer cómo se produce la modificación de la microbiota fúngica de suelos cultivados con pimiento, cuando se desinfectan con diferentes procedimientos y técnicas. Se aprovecharon para tal fin los ensayos cuyo objetivo era buscar alternativas para sustituir al bromuro de metilo.
- b) Indagar sobre la recolonización de los suelos desinfectados y tratar, al tiempo, de establecer una relación entre la microbiota fúngica recolonizadora y el fenómeno de “cansancio” o “fatiga” del suelo en los pimentonales del Campo de Cartagena (Comunidad Autónoma de la Región de Murcia).

¿Cuáles eran las limitaciones para emprender un trabajo de la índole del aquí presentado? ¿Cómo debería hacerse el enfoque bibliográfico para una introducción que acogiese los enfoques más generalmente aceptados sobre hongos del suelo?. Para contestar a estas complejas cuestiones se han utilizado como ejes directrices tres obras amplias y densas: “Microorganisms in the soil” (BURGES, 1960), “Pathogenic Root-Infecting Fungi” (GARRET, 1970), y “Ensayo de caracterización de suelos agrícolas y forestales de Extremadura tomando como indicadores a *Fusarium* Link y *Pythium* Pringsheim: la representatividad del muestreo” (RODRÍGUEZ MOLINA, 1996).

Entre los tres textos suman casi 1.000 referencias bibliográficas, naturalmente muchas de ellas repetidas. Abarcan desde 1917 hasta 1996, casi ochenta años de investigación específica. De esta forma, se tiene una perspectiva suficientemente amplia, para seleccionar aquellos conocimientos que han reposado y han sido confirmados con el tiempo. Las dos selecciones bibliográficas primeras miden, además, la época anterior al ya legendario Congreso sobre Ecología microbiana, celebrado en California en 1965, y que dio lugar a una época de estudios que abarcaron las investigaciones hacia el control biológico de patógenos de suelo que enferman a las plantas. Es el caso del tratado de BURGES. Mientras que GARRET se hace eco de aquel evento científico, adop-

tando un enfoque un tanto diferente: deja los hongos no patógenos y se dedica a estudiar el saprofitismo de los parásitos de raíces. Finalmente, RODRÍGUEZ MOLINA está influenciada por los trabajos generados sobre la supresividad de suelos a las micosis telúricas, que produjeron conocimientos esenciales sobre la ecología microbiana en el suelo. Su trabajo incide sobre los demás, puesto que se plantea resolver una cuestión fundamental: ¿a quién representa una muestra de suelo analizada para cuantificar una población microbiana concreta? La resolución es necesaria para hacer o no generales los trabajos que se fundamentan en asignar unos miles o millones de propágulos de un microorganismo a un peso dado de suelo.

No es posible una revisión separada en espacios discretos, de modo que respetando esta idea vertebradora, se cruzarán en algunos casos opiniones de los tres autores —y a veces de otros— para enmendar un concepto o determinar las limitaciones de una técnica analítica.

Dos ideas subyacen en los tres tratados: Por un lado las fuentes nutritivas en el suelo que determinan la ordenación en “grupos ecológicos” a los hongos. Por otro, las deficiencias de las técnicas analíticas que permitan dar como fiables unos resultados que sustenten una generalización. El enfoque ha sido realizado por los autores mencionados en función de las fuentes nutritivas, de tal manera que la adscripción de una especie, un género o un orden de hongos a un “hábitat” concreto se ha fundamentado en las fuentes nutritivas disponibles y utilizadas por ellos. Fuentes que han orientado los métodos y técnicas analíticas en el laboratorio. Técnicas que han limitado el conocimiento por sus imperfecciones intrínsecas. Parece conveniente, por tanto, repasar dichos procedimientos en laboratorio, poniendo un énfasis especial en las utilizadas en este trabajo de tesis.

1.5. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA HONGOS DEL SUELO

El esquema general de los hongos de suelo que parece deducirse de muchos de los estudios realizados a mediados del siglo XX, es el de organismos que constan especialmente de estructuras en descanso en un mosaico de microhábitats, a menudo con poco crecimiento de micelio pero que entran rápidamente en actividad cuando algún suceso trae sustancias nutritivas frescas a las células en descanso que hacen posible su explosión.

En general, han habido dos formas diferentes de estudiar los hongos del suelo. La primera, es mediante examen microscópico ya sea del suelo, de los sustratos o de los materiales, tales como un vidrio o nylon, después de haberlos situado en el suelo: la segunda, es mediante el aislamiento de los organismos, ya sea directamente o mediante técnicas de cultivo.

Dentro del método de observación directa, existían diversas técnicas. Entre ellas, la del portaobjetos enterrado de Rossi-Cholodny, que permitía obtener información sobre el desarrollo de microorganismos de la región radical (STARKEY, 1938) pero presentaba varias desventajas y raramente era posible identificar los microorganismos que aparecían en el portaobjetos. En efecto, en primer lugar, el hecho de enterrar el portaobjetos en el suelo podía, por sí solo permitir un desarrollo microbiano estimulado debido a la condensación de agua sobre el vidrio y a la superación de la fungistasis general en el suelo en las proximidades de los portaobjetos enterrados. En segundo lugar, es muy difícil relacionar los números de células bacterianas y las longitudes de micelio fúngico observadas sobre los portaobjetos enterrados.

TRIBE (1957) enterraba piezas de celofán en el suelo enganchadas a cubreobjetos. Después de diversos periodos de tiempo, y en distintos estadíos de descomposición del celofán se recuperaba el cubreobjetos y se examinaba al microscopio. En otras ocasiones, se han empleado cajas de observación de vidrio, poniendo de manifiesto la concentración de microorganismos en la región radical de diversas plantas.

Otra de las técnicas empleadas fue la modificación del tubo de inmersión de Chesters (CHESTERS, 1940) que demostró ser útil en el estudio de hongos de la rizosfera (PARKINSON, 1957; CHESTERS y PARKINSON, 1959). Esta modificación iba dirigida a aislar hongos existentes de la rizosfera en forma de micelios en crecimiento activo.

ADAMETZ es considerado el primero que aisló hongos del suelo ya en el año 1886. La mayoría de las primeras investigaciones caen dentro de una o más de estas tres clases: estudios puramente sistemáticos, investigaciones fisiológicas o bioquímicas y estudios cuantitativos que implicaban las estimaciones numéricas de las flora de hongos de los suelos.

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

Los géneros encontrados comúnmente en el suelo y que se pueden aislar por métodos convencionales son: *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cephalosporium*, *Gliocladium*, *Monillia*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Pulularia*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, (Hongos Imperfectos); *Absidia*, *Cunninghamella*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Zygorhynchus* y *Pythium* (Ficomiceos); *Chaetomium* (Ascomiceto) y *Rhizoctonia*.

Una de las funciones principales de los hongos filamentosos en el suelo es degradar la materia orgánica y ayudar en la agregación de las partículas del suelo. Además de esta propiedad, ciertas especies de *Alternaria*, *Cladosporium*,

Gliocladium, *Helminthosporium* o *Humicola* producen sustancias similares a las sustancias húmicas en el suelo, y por tanto, pueden ser importantes en el mantenimiento de la materia orgánica del suelo.

1.5.1. Técnica de las diluciones sucesivas del suelo en agua estéril

Ésta, ha sido la utilizada en el trabajo para cuantificar la microbiota fúngica. Consiste, en esencia, en elaborar una suspensión del suelo en agua estéril y a partir de ella ir confeccionando suspensiones decimales sucesivas. De esta manera puede seleccionarse una suspensión que proporcione la máxima información. Ha sido usado ampliamente como ya indicaron WAKSMAN, (1927), GARRET, (1951) y WARCUP, (1960).

Las limitaciones más importantes de esta técnica ya las describió BURGÉS de la siguiente manera:

- a) Los microorganismos aislados no son todos los que se supone que hay en el suelo. Sólo se aísla una parte de la microbiota, en función del medio de cultivo utilizado. Este aspecto, ya fue señalado por BRIERLEY (1927) treinta años antes. Es decir, suponiendo que existieran medios de cultivo selectivos o favorecedores para cada grupo de hongos deberían hacerse para la misma muestra tantos análisis como sustratos de cultivo. Y no sería esto lo más gravoso, por laborioso. El impedimento está centrado en la disponibilidad de esos medio de cultivo. Ha sido más criticado por los micólogos que por los bacteriólogos. Y hay en ello un punto de razón.

Si han existido críticas sobre si cada colonia bacteriana aparecida con la técnica de las diluciones sucesivas procede de una sola célula, en el caso de los hongos es más difícil aceptar esta posibilidad. El concepto "individual" es muy poco significativo para los hongos. Se sabe que las hifas crecen y se ramifican en el suelo, tardando en morir y además esporulan. El método, por tanto, no permite precisar la unidad fisiológica o morfológica que originó la colonia. Los estudios minuciosos realizados por WARCUP (citado por BURGÉS) indican que la mayoría de las colonias de hongos que se desarrollan en las placas de Petri del análisis proceden de esporas y no de trozos de hifas. Así lo refieren también TELLO *et al.* (1990; 1991) en base a trabajos de LOPER *et al.* (1984) y LEMENCEAU *et al.* (1988) cuando afirman que la mayoría de colonias proceden de esporas y no de fragmentos miceliarios. BURGÉS presenta una Tabla, de la cual un resumen se encuentra en la Tabla 4.

La Tabla se completa relacionando, además, el efecto de la humedad y la presencia de partículas de humus, con la mayor presencia de colonias fúngicas. Apostillando que en los suelos áridos no se han observado colonias procedentes de hifas.

Tabla 4. Origen de las colonias fúngicas que se desarrollaron en el análisis de 10 muestras de suelo de un campo de trigo

Número de muestras	Nº de colonias y origen desarrollo en el medio	
	Esporas	Hifas
33	78	1
34	77	2
35	80	3
36	70	4
37	82	2
38	70	0
38a	54	0
39	62	0
39a	56	0
40	70	0

Fuente: Elaboración a partir de BURGUES (1960).

Esto viene a explicar como los hongos del suelo que no esporulan en los medios de laboratorio, tampoco se aíslan en los análisis de suelos agrícolas utilizando este método. Tal es el caso de *Rhizoctonia solani*. Pero no da una respuesta comparable al aislamiento de *Macrophomina phaseolina* (*Rhizoctonia bataticola*) que en los medios habituales sólo se presenta bajo su forma esclerocial y miceliar de *R. bataticola*. El método de las diluciones sucesivas permite exteriorizarse a especies de hongos que esporulan abundantemente como las pertenecientes a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* o algunos de crecimiento rápido como *Trichoderma*.

- b) Muy criticada ha sido esta técnica de las diluciones sucesivas por no contarse entre el conjunto de hongos del suelo aislados con ella a los basidiomicetos, cuando se conoce sobre su abundancia en el suelo. Al menos en los no cultivados. Entre las explicaciones posibles podrían aceptarse los ejemplos brindados por las micorrizas de las cuales unas no han sido, por el momento, reproducidas "in vitro" y otras, las ectomicorrizas, necesitan una complejidad de medio de cultivo enorme para aislarlas tanto del micelio como de las basidiosporas de los carpóforos.

Estas limitaciones tienen una gran trascendencia para, como se verá más adelante, tratar de separar a los hongos verdaderamente habitantes del suelo de aquellos que son considerados como colonizadores transitorios. Pese a estas limitaciones, escribía BURGUES, "es, tal vez, el más útil para comparar ciertos estudios, como, por ejemplo cuando se quieren observar los cambios debidos a un tratamiento con estiércol o a un cambio de cosecha, o bien cuando se desea estudiar el comportamiento de una sola especie".

Por otro lado, GRIFFITHS y SIDDIQUI (1961) consideraban que mientras una simple estimación cuantitativa de las placas tenía un valor muy restringido, esto no era necesariamente válido para una sucesión de estimaciones realizadas con intervalos relativamente frecuentes, por lo que era posible detectar cambios en las poblaciones de esporas. Asimismo, los autores sugieren que la población de esporas puede considerarse como un barómetro de la actividad de los hongos en el que es interesante el cambio en valor más que el valor absoluto.

Más de 30 años después, TELLO *et al.* (1992) seguían recomendando esta técnica, que en principio no ha encontrado sustitución pese a sus limitaciones.

1.5.2. Técnica del suelo en placa o de la adición del suelo al medio de cultivo fundido

Numerosos métodos analíticos se desarrollaron para subsanar las deficiencias de la técnica de diluciones sucesivas. No es el caso relatar aquí, pero su permanencia ha sido relativamente escasa. Excepto una modificación sustancial realizada por WARCUP y publicada en 1950 en la prestigiosa revista *Nature*. La técnica consistía en anular las diluciones sucesivas del suelo en agua estéril y añadir éste al medio fundido, a una temperatura de unos 35-40°C; o bien, añadir la muestra directamente a la superficie de medio solidificado (WAKSMAN). WARCUP prefirió añadir el suelo al agar fundido evitando así la película de agua que rodea a la partícula del suelo depositada en la superficie del agar, que favorece el rápido crecimiento bacteriano en detrimento del desarrollo fúngico. Dicha técnica, ha sido empleada para estudios cualitativos de los hongos de la rizosfera (PARKINSON, 1957; CATSKÁ *et al.*, 1960). Su gran ventaja estriba en que puede utilizarse con facilidad y rapidez. Los resultados comparativos recogidos por BURGÉS (1960) se reflejan en la Tabla 5:

Tabla 5. Distribución de los hongos más abundantes en los campos de trigo. Comparación de los métodos de dilución en placas (adición del suelo al medio fundido) y del suelo depositado en la superficie del medio agarizado sólido (suelo en placas)

	Dilución en placa			Suelo en placa		
	2,54	7,64	15,24	2,54	7,64	15,24
Profundidad de la muestra (cm)	2,54	7,64	15,24	2,54	7,64	15,24
Las 13 especies de hongos más esporógenos	7.343	4.799	1.499	1.427	1.321	1.059
Las 11 especies más abundantes de hongos estériles	23	12	7	8	0	24
República Checa	7.965	5.638	1.899	–	–	–
Número total de especies	87	91	75	70	76	86

Fuente: BURGÉS, (1960), resumido de WARCUP, (1957). Se expresa en número de colonias.

Los resultados son elocuentes a favor del método de dilución en placa, que es el utilizado en este trabajo de tesis para evaluar la densidad de inóculo de *Fu-*

sarium. Técnica que, además fue utilizada por TELLO y LACASA (1990) para evaluar diferentes suelos cultivados (clavel y tomate) e incultos (pinares y arenas de playa) de la comunidad de Murcia. Así como también fue utilizado por RODRÍGUEZ MOLINA (1996) para estudiar poblaciones de *Fusarium* en suelos cultivados (ceceo, espárrago, hortalizas) y no cultivados (pinares), permitiendo así una posibilidad comparativa real.

Los hongos aislados con mayor frecuencia por WARCUP y resumidos en la Tabla 5, fueron: *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor* y *Fusarium*. Como se verá más adelante, muy próximos a los obtenidos en los suelos estudiados en esta tesis.

1.5.3. Método de Cambridge y técnica para evaluar el potencial infeccioso de los suelos

El primero fue propuesto por GARRET (1970) para estudiar la capacidad saprofitaria de los habitantes del suelo. En esencia, propuso enterrar pajas de trigo en el suelo a estudiar, que previamente era diluido en arena esterilizada para tener así diferentes concentraciones de un mismo suelo. Así describe el autor la técnica:

Los cultivos puros, de hongos de los cuales se pretende conocer su habilidad parasitaria, se multiplicaron en una mezcla de arena de cuarzo con el 3% de harina de maíz. Cuando el hongo había colonizado toda la mezcla se mezclaba con el suelo a estudiar sin esterilizar en la proporción deseada. Las proporciones que se recomendaban fueron: 100 (cultivo puro en arena +harina de maíz), 98, 90, 50, 10, 2 y 0 (solamente suelo no esterilizado). Con las proporciones anteriores se rellenaban recipientes de vidrio y se enterraban, posteriormente, en cada recipiente 50 unidades estandarizadas de sustrato consistente en tejidos de planta muerta. Las unidades (recipientes) se incubaron durante 4 semanas para dar al hongo inoculado un tiempo suficiente para colonizar tantas "trampas vegetales" como fuera capaz en competición con los otros hongos del suelo a estudiar.

Una variante de este método fue utilizar plántulas vivas de pepino y harina de avena para medir el potencial infeccioso de *Pythium* en el suelo, propuesto por BOUHOT (1980).

Estas técnicas se inspiraban en otras más antiguas consistentes en introducir en el suelo diferentes "trampas" como pelos humanos, portaobjetos con diferentes medios de cultivo que pretendían capturar a los hongos del suelo según sus habilidades nutritivas (descomponedores de quitina, de celulosa, etc.).

Ninguna de estas técnicas son comparables a las utilizadas para evaluar los hongos totales del suelo, aunque tengan una relación con ellos. Esta consideración hubiese sido suficiente para no utilizarlas en este trabajo de tesis pero además, tampoco tenían una aplicación práctica para el propósito de manejar tantas muestras de suelo como las analizadas.

1.5.4. Fitopatometría de suelos (DE CARA *et al.*, 2006; 2007)

Las técnicas analíticas anteriores, señaladas en el apartado 1.5.3, no permitían una evaluación cualitativa y cuantitativa de toda la microbiota fúngica del suelo. Las técnicas de las diluciones sucesivas y la de adición directa del suelo al medio de cultivo fundido servían para medir de manera más amplia los hongos telúricos sobre su hábitat, pero no aportaban ninguna información sobre su habilidad parasitaria y con muy poca precisión sobre su habilidad saprofitaria. La técnica del fitopatómetro era útil para evaluar las habilidades saprofitarias de hongos colonizadores y parásitos de las raíces de las plantas, estuviesen éstas sanas o senescentes.

La técnica para la fitopatometría del suelo consiste en mezclar una proporción de suelo con vermiculita desinfectada en autoclave (60 minutos a 120°C). Distribuir la mezcla en macetas desinfectadas y sembrar semillas germinadas y desinfectadas previamente, de la especie vegetal para la que se deseen conocer los patógenos telúricos que la parasitan. Mantener durante los días que se estimen oportunos para que se expresen los patógenos en condiciones controladas de cámara de cultivo o fitotrón.

DE CARA (2007) compara los hongos aislados del suelo utilizando para ello: 1) diluciones sucesivas con un medio acidificado de agar-malta, 2) adición del suelo a un medio selectivo para *Fusarium* (KOMADA, 1975) en estado de fusión y 3) la técnica del fitopatómetro y obtiene los siguientes resultados generales:

- Comparando los hongos aislados en los análisis de suelos en agar-malta acidificado con los encontrados en el mismo medio al analizar las raíces de las plantas de melón que permanecieron en el fitopatómetro durante 45 días, aparecen en ambos casos *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* (varias especies), *Macrophomina phaseolina*, *Curvularia*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Phoma*, *Pacelomyces*, *Trichoderma*, *Pythium*, *Stemphylium*.
- Sin embargo, en las raíces de las plantas aparecieron los siguientes hongos que no se aislaron en el análisis de suelo: *Pythium* (*P. aphanidermatum* y *P. deliense*), *Monosporascus cannonballus*, *Olpidium bornovanus* y *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*.

Este hecho diferencial tiene una explicación para algunos de los micromicetos. Es conocida la dificultad de expresión de *Pythium* en este medio agarizado, que se manifiesta muy bien utilizando trampas vegetales como los pétalos de clavel. Lo mismo podría indicarse para *Monosporascus*, que coloniza las raíces senescentes de melón y sandía. Finalmente, *Olpidium*, hasta la fecha es considerado como un parásito obligado de raíces. En el caso de *F. oxysporum* f.sp *melonis*, no es que no se aíse con la técnica de las diluciones sucesivas *F. oxysporum*, es que en el medio con agar, no es posible separar, hoy por hoy, formas no patógenas de las causantes de enfermedad.

- Cuando se comparan las especies de *Fusarium* obtenidas en los análisis de las plantas de melón del fitopatómetro con las aisladas utilizando el medio selectivo para *Fusarium*, prácticamente ninguna diferencia puede ser establecida: *F. verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. dimerum* y *F. equiseti* son las mayoritariamente presentes cualquiera que sea el origen del suelo analizado. Parece claro, a tenor de la técnica de la fitopatometría de suelos, que las suspensiones sucesivas y la técnica de WARCUP no son tan parciales como se ha escrito con mayor o menor razón.

1.5.5. Técnicas de muestreo del suelo para análisis de hongos

Las técnicas revisadas anteriormente hacen referencia a una sola muestra de suelo. ¿A quién representa dicha muestra?. Esta pregunta es pertinente puesto que este trabajo recoge el análisis de muchas muestras que se tomaron en diferentes invernaderos de la misma comarca. Invernaderos en los cuales se habían ensayado distintos tratamientos de desinfección. Muestras que fueron tomadas, además, en diferentes partes del suelo: suelo seco entre líneas de cultivo, suelo húmedo en las líneas donde crecían las plantas de pimiento y suelo colonizado por las raíces al que se ha denominado rizosfera.

Antes de proceder a responder la pregunta planteada parece procedente saber qué se entiende por rizosfera. El término está bastante imprecisamente definido para contener en él la competición microbiana previa al hecho de parasitar las raíces de las plantas y en su caso ocasionar la enfermedad.

Una primera aproximación al concepto se tomará de POCHON y DE BARJAC (1958). Estos autores suponen que las raíces vegetales modifican el equilibrio de las poblaciones microbianas del suelo. La producción por las raíces de gas carbónico, sustancias con acción energética, enzimática o auxínica, así como descamaciones celulares que pueden ser metabolizadas por los microorganismos, modifican la microbiota telúrica.

El crecimiento de la raíz a través del suelo ejerce importantes efectos sobre la población microbiana del suelo. La raíz activa y, en particular la zona situada inmediatamente por encima del ápice de la raíz, exuda sustancias orgánicas e inorgánicas que viene a reforzar la actividad microbiana, aunque algunas de ellas exudan sustancias que actúan en contra de ciertos microorganismos. Por descomposición, la raíz pierde células a partir de las raíces jóvenes y de la coifa, que aportan al suelo un sustrato apto para el desarrollo microbiano.

Las proporciones de anhídrido carbónico, de oxígeno y de agua son considerablemente distintas en la región de la raíz de las alejadas a ella, pudiendo influir sobre la actividad microbiana. El pH del suelo tiende a mantenerse más próximo a la neutralidad en la zona adyacente a las raíces que el del suelo alejado de ellas. Asimismo, el potencial redox del suelo adyacente a las raíces es inferior, probablemente a causa de los exudados del suelo, en comparación con el del resto del suelo. BARBER (1962) ya indicó que, en ciertas ocasiones, es posible que pueda restablecerse una concentración de nutrientes inorgánicos en la proximidad inmediata de las raíces. Estos factores pueden influir de una forma u otra sobre la estimulación numérica y fisiológica de los microorganismos de la región radical.

Por otro lado las plantas se nutren de sustancias metabolizadas por los microorganismos (exclúyanse, por el momento micorrizas o simbiosis bacterias-leguminosas). En general, los microorganismos que habitan en la rizosfera sirven como un intermediario entre la planta, que requiere nutrientes inorgánicos solubles y el suelo que contiene nutrientes necesarios pero mayoritariamente en formas inaccesibles y complejas. POCHON y DE BARJAC (1958), distinguen, no obstante dos sectores en la rizosfera:

- a) una rizosfera alejada, distante, que se puede extender desde algunos milímetros hasta unos 50 cm de la raíz. Se suele llamar edafosfera.
- b) una rizosfera próxima, capa de tierra en contacto íntimo con las raíces. Se le suele llamar rizoplana o histosfera.

CAMPBELL *et al.* (1971) afirmaron que se trata de una zona que tiene una extensión de algunos milímetros y ejerce sus mayores efectos físicos y químicos sobre los microorganismos en su superficie externa o rizoplano. Asimismo, aseguraban que la población de la rizosfera difiere tanto cuantitativa como cualitativamente del resto del suelo.

De este mismo espíritu se impregna la interpretación de la rizosfera que hace BURGÉS (1960), que se expresa de la siguiente manera:

Los estudios que permitieron conocer la profundidad a la que se encontraban los hongos en el suelo —alcanzando hasta 1 m de profundidad pero siendo los primeros 40 o 50 cm de profundidad donde mayormente estaban presentes—

tuvieron una primera enmienda cuando dichos suelos estaban poblados con plantas, como ocurre en la mayoría de los suelos del planeta. La enmienda la motivó la presencia de la raíz.

La raíz crea un nuevo hábitat, o al menos nuevas condiciones en el hábitat. La asociación de las raíces con los microorganismos del suelo es un hecho conocido desde muy antiguo y era muy valorada a través de las leguminosas y sus nódulos bacterianos. Su estudio motivó numerosísimos trabajos, con marcado acento en las asociaciones micorrízicas. Fue Hiltner, quien hace más de 100 años definió el término de rizosfera para designar aquella parte del suelo que se ve modificada por la actividad de las raíces. Las raíces producen en el suelo diversos efectos: descenso de la concentración de ciertos nutrientes minerales, desecación parcial de la zona por absorción de agua, aumento de la cantidad de carbonatos por la eliminación del dióxido de carbono, incremento de las sustancias alimenticias para los microorganismos al exudar y al desprenderse parte de ella.

Uno de los mayores defectos de los estudios rizosféricos es que han adolecido de falta de precisión para tomar las muestras. El espacio definido como la zona colonizada por la raíz puede variar. Así, parece lógico que el suelo es más pobre en materia orgánica aprovechable y nutrientes minerales que la rizosfera. ¿Es esto así en el suelo hortícola donde la intensificación del cultivo y los sucesivos laboreos anuales uniformizan el menos la capa arada? BURGES (1960) refiere que en los suelos más ricos se muestra poco el efecto de las raíces y la rizosfera, nunca más allá de 1 mm. Por el contrario en los suelos pobres los cambios de la microbiota se pueden comprobar a 10-25 cm de distancia de la raíz. En trabajos realizados con judías, remolacha y cereales, se comprobó que el incremento de bacterias ocurría a una distancia de 20-22 cm de las raíces, contándose 18 millones a 35 cm y 30 millones a 22 cm, incrementándose las cifras a medida que las muestras se tomaban más próximas a la raíz, hasta alcanzar la cifra de varios cientos de millones en la superficie de la raíz (STARKEY, 1929; 1931; ROVIRA, 1953; KATZNELSON y ROUATT, 1957; PAPAIVAS y DAVEY, 1959). Esta observación tiene plena vigencia para los suelos de los invernaderos con cultivo de pimiento estudiados en esta memoria de tesis. Estas observaciones y otras en el mismo sentido dieron lugar a proponer la eliminación del término rizosfera y sustituirlo por el de rizoplana, debido a que la mayoría de los microorganismos se originan en la superficie de la raíz. Sin embargo, fue de mayor aceptación distinguir tres regiones distintas: la superficie de la raíz, la rizosfera y el suelo que está fuera del influjo de la raíz. Desde el punto de vista operativo o analítico, las muestras de rizosfera se toman arrancando la planta con sus raíces y tomar una porción del suelo adherido a ellas, que es el que se utiliza para analizar. Los resultados se expresan por el cociente R/S, donde R es el número de microorganismos aislados en la rizosfera y S el de los aislados del suelo.

Numerosos estudios pusieron en evidencia que el efecto rizosfera depende de la especie vegetal (basten como ejemplos los trabajos de VANCURA y HANZLIKOVA

(1972) y de CURL y TRUELOVE (1985), de la edad, la cantidad de proteínas y de carbohidratos liberados por plantas herbáceas que se ven reducidos conforme aumenta la edad de la planta (JUO y STOTXZKY, 1970; LILJEROTH y BAATH, 1988; PARKINSON, 1957; FRENZL, 1960), y del vigor de la planta. Concretamente, la calidad de los componentes liberados por las raíces de las plantas parece influir fuertemente en la composición y actividad en la rizosfera, como muestra la preferencia de ciertas bacterias por los exudados de raíz de diferentes plantas. Así, los mayores efectos de la rizosfera sobre los microorganismos se aprecian, en general, cuando la planta alcanza su tamaño normal y empieza a florecer.

El estímulo de los microorganismos se supone que está motivado por sustancias procedentes de la secreción radicular y de la autolisis de las células de la raíz muertas o próximas a morir (PRIKRYL y VANCURA, 1980; SCHONWITZ y ZEIGLER, 1982; GARDNER, *et al.*, 1983; ROVIRA *et al.*, 1988; MEHARG y KILLHAM, 1991; 1995). Las raíces excretan sustancias inorgánicas, pero las que más actúan sobre los microorganismos son las orgánicas (azúcares y aminoácidos). Para algunos investigadores las escamaciones radiculares llegan a ser más importantes que las sustancias excretadas. Entre estas sustancias se han descrito numerosos aminoácidos (lisina, glicina, serina, asparagina, leucina, treonina, glutamina, etc.) y azúcares (glucosa y fructosa).

DOMMERGES y MANGENOT (1970) definen la rizosfera como la zona en la cual la microbiota telúrica está sometida a la influencia de las raíces. Separan dos partes:

- a) Rizosfera propiamente dicha que corresponde a la fina capa de suelo que se “adhiera fuertemente” a las raíces, pero que puede ser eliminada por lavado y una agitación moderada en el agua. Se subdivide, a veces, en rizosfera próxima y en rizosfera lejana.
- b) Rizoplana o superficie de las raíces, cuya microbiota se extrae por agitación vigorosa de las raíces previamente lavadas y agitadas moderadamente para extraer la rizosfera.

El cambio con respecto a los anteriores autores es meramente de distancias entre las raíces y el suelo que las rodea. Es más, DOMMERGES y MANGENOT (1970), después de estas limitaciones tan estrictas indican: “salvo indicación contraria, el término rizosfera será empleado en su aceptación amplia, a saber, el conjunto de la rizosfera y la rizoplana”.

Estos ejemplos parecen ser suficientes para justificar en este trabajo el término rizosfera: tierra que queda adherida a las raíces cuando se arranca una planta. Término que será equivalente a la expresión suelo rizosférico. Y basten los autores anteriores, además, para subrayar las imprecisiones metodológicas existentes para análisis microbiológico de un suelo sometido a la influencia de las raíces.

El propósito de este apartado era responder a la pregunta: ¿a quién representa una muestra de suelo tomada para análisis de hongos? La respuesta es compleja y nos la proporcionan los trabajos de RODRÍGUEZ MOLINA (1996) y RODRÍGUEZ-MOLINA *et al.* (2000).

El procesado de las muestras y su preparación pueden tener una influencia en el resultado analítico final. Así se ha puesto de manifiesto para hongos del género *Fusarium*.

¿Cuánto tiempo puede conservarse una muestra antes de proceder a su análisis? RODRÍGUEZ MOLINA (1996) analizando muestras conservadas durante 0, 6 y 9 meses en el ambiente de laboratorio, concluyó en que conforme era mayor el tiempo de conservación, la densidad de *Fusarium* en ellas disminuía linealmente. Sin embargo, cuanto mayor era la concentración de especies de *Fusarium* más acusada era esta disminución. En pocas palabras, la variación de la población del hongo era función de la muestra.

¿Cuál era la repetibilidad de la muestra? Trabajando con 18 muestras de suelos, las diferencias de resultados entre dos análisis consecutivos para la misma muestra, las mismas condiciones analíticas, el mismo operador y un corto intervalo de tiempo (8-10 días) entre análisis y análisis, los resultados diferían significativamente de una fecha a otra. Sin embargo se mantenían las tendencias, es decir, la mayor densidad seguía manteniendo esa primacía. La autora recomienda comparar las tendencias, pero no los valores numéricos absolutos.

¿Cuál era la reproducibilidad de la muestra? El trabajo se hizo sobre 42 muestras. En este aspecto se aplicó la misma técnica analítica pero en condiciones diferentes: diferentes analistas, diferentes laboratorios, diferentes aparatos y momentos diferentes. Las diferencias para la misma muestra eran claramente significativas, pero las tendencias, como en el caso anterior, se mantenían.

TELLO y LACASA (1990) ya se interrogaron sobre la representatividad del muestreo de suelos. En este sentido RODRÍGUEZ MOLINA (1996), muestreó una calicata de 1 m de lado, de manera que cada cara tenía una superficie de 1 m². Sobre tres de las caras marcó 4 horizontes de 10 cm de profundidad cada uno y sobre la cuarta marcó 8 horizontes de la misma profundidad, hasta llegar a 80 cm de profundidad. En la línea media de cada horizonte marcó 10 puntos equidistantes entre sí 10 cm. Procedió posteriormente a procesar y analizar todas las muestras para cuantificar las poblaciones de *Fusarium*.

Los resultados pusieron en evidencia la gran heterogeneidad de las poblaciones de *Fusarium* en el suelo muestreado, siendo claro que las densidades de población de *F. solani* y *F. roseum* variaban significativamente según la cara, el horizonte y el punto de muestreo, existiendo interacciones entre los factores cara y

horizonte. Para *F. oxysporum* y para la población total de *Fusarium*, también se observaron diferencias significativas entre horizontes y entre puntos, pero no entre caras, existiendo interacción entre los factores cara y horizonte.

1.6. HONGOS DEL SUELO. HABITANTES E INVASORES DEL MEDIO EDÁFICO

No existe un acuerdo entre los autores para establecer los límites que marquen las diferencias ecológicas entre los hongos que se aíslan del suelo. Esto es comprensible si se tienen en cuenta las técnicas analíticas comentadas en el apartado anterior y las imprecisiones que les han sido atribuidas. Técnicas a las que ponen límites los medios de cultivo (sustratos alimenticios) utilizados, esencia de la competición por la subsistencia. En este sentido, RODRÍGUEZ MOLINA (1996) escribía que:

La interacción de microorganismos en el suelo es extremadamente compleja y al día de hoy no es posible enunciar los principios que rigen el equilibrio biológico del suelo. BAREA y AZCÓN-AGUILAR (1982) establecieron varias categorías de interacciones entre microorganismos: comensalismo, protooperación, mutualismo, neutralismo, competición, amensalismo, predación y parasitismo. Que no son diferentes para los conocidos de otros grupos de seres vivos. Ha sido la competición la más ampliamente estudiada en las poblaciones microbianas del suelo y es la fungistasis, entendida como la competición por el alimento el fenómeno más contundentemente estudiado y que nosotros aceptamos como la primigenia interacción entre los hongos telúricos. Paradigmáticos han sido los trabajos de STEINER y LOCKWOOD (1969), Ko y LOCKWOOD (1970), STEINER y LOCKWOOD (1970), HSU y LOCKWOOD (1971), GRIFFIN y FORD (1974), SNEH y LOCKWOOD (1976), HORA *et al.* (1977), LOCKWOOD (1977; 1988), que han transmitido una concepción sobre la fungistasis fundamentalmente, desde el punto de vista de este trabajo de tesis.

1.6.1. Grupos ecológicos de los hongos del suelo

La primera clasificación presentada por BURGÉS, que no fecha, y que atribuye a Winogradsky dividía a los organismos del suelo en dos grupos: autóctonos, que eran las verdaderas formas del suelo y son las mantenedoras de los procesos bioquímicos de forma más o menos continua y zimógenos, que eran aquellos que entraban en actividad cuando disponían de un sustrato alimenticio apropiado. Surge el "concepto de flora autóctona" para agrupar cuando están en fase vegetativa y "flora zimógena" cuando están en fase de reposo.

Ciertamente esto puede ocurrirle a cualquier microorganismo del suelo y no es posible separar una fase de otra que agrupe a los microbios por sepa-

rado. Sin embargo, esto motivó trabajos para diferenciar las hifas vegetativas de los reservorios de esporas. Pretendían de esa manera dar respuesta a las dudas que se plantearon sobre si los hongos vivían en los suelos produciendo micelios vegetativos, cuestión que era básica para que se aceptase que los hongos son verdaderos organismos del suelo, puesto que desarrollaban su ciclo vital en él. Estos laboriosos trabajos permitieron encontrar hifas en el suelo, en mayor o menor abundancia, hasta el punto de ser responsables de la estabilidad de pequeños terrones de suelo, interviniendo en su formación. De igual manera que las esporas de la mayoría de las especies de *Penicillium*, *Rhizopus* y *Mortierella* estaban en el suelo la mayor parte de las veces bajo forma de esporas.

Es bastante interesante conocer, para los propósitos de esta tesis, lo que BURGES escribe sobre hongos autóctonos del suelo a los que denomina como verdaderos habitantes del suelo. Como se indicó anteriormente se considerarían verdaderos habitantes del suelo a los descomponedores iniciales de la materia orgánica añadida al suelo que se han denominado zimógenos y los autóctonos como aquel grupo más estable que no son afectados por dicha materia orgánica. De una manera más clara los autóctonos han intentado definirse en suelos no cultivados, y dentro de estos en suelos arenosos muy pobres.

Las pruebas que presenta BURGES las toma de suelos arenosos donde en las capas más profundas existe una población bien definida de *Zygorrhynchus*, hongo cuyo micelio se ramifica vigorosamente por la arena porosa y no parece hallarse unido a ningún sustrato orgánico en particular. Parece demostrado que su fuente alimenticia es la sustancia orgánica de la solución del suelo, que contiene pequeñas cantidades de azúcares simples y de aminoácidos. Análoga interpretación se da del género *Mortierella*.

Ante este planteamiento desde la ecología microbiana del suelo, algunos investigadores mantenían que ninguno de los hongos son verdaderamente autóctonos. Por conveniencia, se han considerado verdaderos organismos del suelo a todos aquellos que viven, naturalmente en este medio sin asociarse a huésped alguno, animal o vegetal. Hay una cierta arbitrariedad en esta definición.

Es posible que desde una perspectiva ecológica estas diferencias tengan un sentido importante, pero desde una perspectiva agrícola y de las capacidades de los microorganismos fúngicos para alimentarse, esta perspectiva es demasiado simple y no permite interpretar los resultados analíticos con los medios y técnicas usados en los laboratorios.

Una división provisional de los organismos, que dura ya medio siglo, es la propuesta por GARRET (1956), que organiza a los diferentes microbios encontrados en el suelo:

- a) Parásitos obligados.
- b) Parásitos que son habitantes o invasores del suelo, e invasores de tejidos en destrucción.
- c) Verdaderos organismos del suelo:
 - Zimógenos
 - Autóctonos

Es evidente que los parásitos obligados dependen completamente de sus hospedadores para su alimentación y pueden encontrarse en el suelo en forma latente o semilátente durante mucho tiempo. Pueden tener una breve fase transitoria de crecimiento hasta alcanzar los tejidos de su hospedador.

De nuevo es GARRET (1956) quien define con mayor exactitud a los habitantes del suelo separándolos de los invasores. De nuevo es el parasitismo, y en consecuencia las fuentes nutritivas las que delimitan a unos y definen a otros. Habitantes del suelo fueron definidos como parásitos primitivos en los cuales el parasitismo es concomitante con su existencia saprofitica en el suelo. Los invasores son “aquellos parásitos del más alto grado de especialización que mueren ante la prolongada ausencia de sus hospedadores, debido a su sustitución por saprofitos en la competición por la materia orgánica muerta”. El mismo autor corrige sus definiciones, y así habitantes del suelo son los organismos caracterizados por la capacidad de conservarse indefinidamente como saprofitos del suelo. Mientras que los hongos habitantes de la raíz, equiparables a los invasores, se caracterizarían por una extensa fase parasitaria en la vida de la planta hospedadora y por una fase saprofitica después de la muerte del huésped.

RODRÍGUEZ MOLINA (1996) revisa estos conceptos, intentando explicar como en los suelos no cultivados (pinares) y en los cultivados (espárrago, cerezos, hortalizas, etc.) aparecen las mismas especies de los géneros *Fusarium* y *Pythium*.

- a) WAKSMAN (1944) propuso la diferenciación de dos grupos ecológicos de hongos en el suelo, a la que se unió RUSELL (1954):
 - Habitantes del suelo (soil inhabitants, en inglés) de vida propia en el medio edáfico, con una distribución geográfica muy amplia.
 - Invasores del suelo (soil invaders) residentes pasajeros, de limitada actividad y de distribución local.
- b) GARRET (1956) refiriéndose a los hongos que invaden e infectan raíces:
 - Parásitos habitantes del suelo (soil-inhabiting parasites): parásitos primitivos, poco especializados, que infectan plántulas y tejidos radiculares primitivos, para los que el parasitismo es accesorio a una vida saprofitica en el suelo.
 - Parásitos habitantes de la raíz (root-inhabiting parasites), muy especializados, a menudo con hospedadores específicos, y para los cuales la vida en el suelo es transitoria.

Desde este punto de vista, parece que la especialización patogénica es incompatible con una vida saprofítica en el suelo.

Sin embargo, algunos autores ponen en duda esta secuencia de evolución (COOKE y WHIPPS, 1980; RAPER, 1968 in LOCKWOOD, 1988). De hecho, los trabajos de TELLO y LACASA (1990) demuestran como *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* (parásito especializado) es capaz, en ausencia del hospedador de germinar en turba de uso hortícola y de esporular produciendo microconidias en un sustrato orgánico de uso hortícola enriquecido.

Para poder entender estas dudas no aclaradas en los últimos 60 años es conveniente retomar algunos aspectos del saprofitismo de los hongos en el suelo. Y será, de nuevo, GARRET (1970) quien sirva de modelo.

1.6.2. Habilidad saprofitaria de los hongos telúricos

GARRET (1970) da una orientación nueva a los estudios de los hongos del suelo. Tomando como modelo a los patógenos que infectan las raíces de las plantas, aporta conocimientos muy importantes sobre la fase saprofita de estos parásitos. Fase saprofita que se centra, esencialmente, en la competición por el alimento. Toda su inspiración, podría quedar resumida en el axioma ecológico que dice: "que la más viva competición ocurre entre organismos que ocupan los mismos, o muy próximos, nichos ecológicos". Ello permite restringir la revisión de este estudio a la competición entre hongos y dentro de ella, a la competición saprofítica en el suelo entre hongos. El segundo principio sobre el que pivotan todos los trabajos examinados por GARRET (1951; 1956; 1970), y los de sus propias investigaciones es, sobre la competición por el alimento. Dado que el trabajo de tesis realizado se ha circunscrito a los hongos no patógenos aislados de los suelos de los pimentonales, parece muy apropiado extraer algunas ideas de las defendidas por GARRET.

Para responder a la pregunta: ¿Cómo sobreviven en el suelo los hongos patógenos que infectan las raíces?, se contemplan tres posibilidades:

- Por la colonización saprofítica competitiva de sustratos orgánicos muertos, comúnmente tejidos de plantas muertas.
- Por la supervivencia saprofítica sobre tejidos de la planta hospedante invadida por el patógeno durante su fase parasitaria sobre ella.
- Por permanencia mediante forma quiescentes (esporas o esclerocios) producidas en tejidos de la planta previamente colonizada en su fase parasitaria.

¿Cómo se ha planteado el estudio de la fase de saprofitismo activo de los hongos en el suelo? De otra manera dicho, ¿se ha planteado el saprofitismo activo en el suelo desligado de las fuentes nutritivas? La respuesta es no. Así, las evidencias experimentales permitieron poner en evidencia que *Rhizoctonia solani* puede sobrevivir en los suelos agrícolas como saprofito competitivo de vida libre por su buen equipamiento para descomponer celulosa. Las investigaciones sobre el saprofitismo se han planteado siempre utilizando trampas que se enterraban en el suelo a estudiar. Así, semillas hervidas de cáñamo para especies de *Pythium*, pelo humano para estudiar los hongos descomponedores de queratina, cáscaras o cubiertas de gambas o langostas para los descomponedores de quitina, pajas de trigo para obtener las primeras evidencias de que *F. culmorum* es un pionero en la colonización de estos sustratos. Estos experimentos permitieron entrever la posibilidad de una fase saprofitica independiente en el suelo para diversos hongos que infectan las raíces. Estos estudios pusieron de manifiesto diferentes grados de habilidad saprofitica entre especies y dentro de una sola especie. Mientras que aspectos del saprofitismo como la permanencia en el suelo mediante propágulos de reposo o la supervivencia saprofitica en tejidos de hospedadores infectados presentan problemas menos difíciles para la interpretación, la competición saprofitica ha motivado amplias y fuertes críticas.

GARRET (1970) estableció que para cualquier hongo la porción de sustrato potencial que puede obtener estará limitado por:

- Directamente por su habilidad competitiva saprofitica, que es una característica propia de la especie —o incluso— de la cepa fúngica.
- Directamente por su potencial de inóculo en la superficie del sustrato.
- Inversamente por el potencial de inóculo de sus competidores.

Estos conceptos merecen un breve desarrollo para poner en evidencia la extraordinaria dificultad que entraña determinar el saprofitismo de los hongos en el suelo.

1.6.3. Habilidad saprofitica de competición para la colonización de sustratos orgánicos muertos

Es procedente aclarar qué se entiende por sustrato. Hay dos aspectos a considerar:

- Sustrato en sentido amplio: material, usualmente tejido de planta, que un hongo ha colonizado y sobre el cual subsiste.
- Sustrato en sentido más restringido: se considera así un constituyente particular del tejido de planta, o de la materia orgánica fresca en general,

que está siendo descompuesto por un hongo concreto (ej.: azúcar, pectinas, hemicelulosa, celulosa o lignina). En este sentido el sustrato evoca aquel que utiliza una enzima.

Estas precisiones pueden entenderse tomando como ejemplo los denominados “hongos del azúcar” (*Pythium*, p.e.) que utilizan para la colonización saprofitica solamente azúcares y otros constituyentes carbonados del tejido vegetal más simples que la celulosa; sin embargo, son incapaces de descomponer la celulosa o la lignina. Son hongos de crecimiento rápido y son pioneros. Al contrario, un hongo descomponedor de celulosa que tenga un alto grado de habilidad competitiva saprofitica para la celulosa, se le supone cierto éxito si consiguen aprovechar pequeñas porciones de azúcares presentes en el tejido vegetal en descomposición enterrado en el suelo. Sin embargo, y dado que su crecimiento es más lento, crecerá descomponiendo la celulosa, lo cual a su vez permitirá un crecimiento menor de los “hongos del azúcar”.

Esta descripción de los sustratos permite entender mejor la primera definición de habilidad saprofitica de competición: suma de características fisiológicas que conducen al éxito en la colonización competitiva de sustratos orgánicos muertos. Esta definición fue modificada por GARRET (1970) (¡14 años después!) cuando escribió: “estamos empezando a darnos cuenta que las clases de habilidad saprofitica de competición son casi tan diversas como los tipos de sustrato susceptibles de colonización saprofitica! Por lo tanto, la habilidad saprofitica de competición específica del sustrato. Si esto es así, los saprofitos obligados tienen una habilidad para colonizar uno o más sustratos, lo cual equivale a capacitarlos para vivir en uno o más nichos ecológicos.

El sustrato —y en consecuencia el alimento— es quien determina esa habilidad saprofitica competitiva. Los atributos de estos hongos pueden, a partir de esta aseveración, ser ordenados de la siguiente manera:

- Germinación rápida de los propágulos fúngicos y rápido crecimiento de las hifas jóvenes cuando son estimuladas por nutrientes solubles que se difunden desde el sustrato a colonizar.
- Equipo apropiado de enzimas para la descomposición de los constituyentes carbonados más resistentes de los tejidos de la planta, tales como celulosa o lignina.
- Secreción de productos bacteriostáticos y/o fungistáticos, incluyendo antibióticos.
- Tolerancia a sustancias fungistáticas producidas por otros microorganismos del suelo.

Estas características fueron resumidas en la siguiente Tabla 6:

Tabla 6. Caracterización de los hongos por su capacidad saprofitaria para competir por los sustratos

	Germinación y crecimiento rápidos	Enzimas para la degradación de celulosa y/o lignina	Producción de antibióticos y sustancias fungistáticas	Tolerancia a antibióticos y sustancias fungistáticas
Hongos saprofitos primarios del azúcar. Colonizadores pioneros de sustrato fresco de plantas	+	-	-	-
Hongos saprofitos secundarios del azúcar. Asociados con descomponedores de celulosa y lignina	-	-	+	+
Hongos de la superficie de la raíz y de la rizosfera	-	-	+	+
Descomponedores de celulosa y lignina	-	+	+	+

Fuente: GARRET, (1970).

Algunos ejemplos pueden ayudar a clarificar el significado de la Tabla:

- Varias especies de *Pythium* (hongo del azúcar) fueron capaces de crecer sobre una película de celulosa cuando dicha película la colonizaban hongos descomponedores de la celulosa. Se establecía así una especie de comensalismo para la explotación del sustrato.
- El crecimiento sobre papel de filtro de un hongo no celulósico como *Humicola lanuginosa* asociado a un potente descomponedor de la celulosa como *Chaetomium thermophile*: Mientras el segundo descomponía el papel, el primero aprovechaba para crecer sobre los productos de la descomposición (azúcares reducidos). En ausencia del *Chaetomium*, *Humicola* no crecía.

De igual manera que se definió un potencial de inóculo para los patógenos de plantas, fue necesario establecer un potencial de inóculo para la colonización competitiva saprofitica.

GARRET (1970) definió ese potencial de inóculo del patógeno de la siguiente manera para concretar la “fuerza invasiva del parásito”: Energía de crecimiento de un parásito disponible para la infección de un hospedador en la superficie del órgano a infectar. Es bueno, para hacer concreta la definición,

saber evaluar la energía de crecimiento por área unitaria de superficie del hospedador.

Para la colonización competitiva saprofitica el potencial de inóculo es la energía de crecimiento de un hongo disponible para la invasión de un sustrato. Es lógico que dicha colonización dependa del nivel de población del hongo en el suelo, del vigor de los propágulos que estará mediatizado por la edad y el nivel de reservas nutritivas y del ambiente.

Un sustrato es inerte en el sentido de no ofrecer una resistencia activa a la colonización, como puede ofrecerla la raíz de una planta viva. En este sentido, la población de propágulos, como componente del potencial de inóculo podría tener, relativamente, un peso mayor en la colonización competitiva que la infección del hospedante.

Sin embargo, estas proposiciones teóricas, podrían tener desviaciones importantes. Así, una "ventaja de posición" puede compensar una debilidad o falta de vigor de los propágulos. Es decir, una alta población de propágulos de una especie fúngica situada en la superficie del sustrato y con una baja capacidad de competición saprofitica, da una ventaja de posición que enjuga su baja capacidad para la competición saprofitica.

Teniendo en cuenta estas especulaciones, se puede perfilar como es el mecanismo de competición saprofitica entre hongos de la siguiente forma:

La porción de un sustrato obtenida por cualquier especie fúngica estará determinada en parte por su habilidad de competición saprofitica intrínseca y en parte por el equilibrio entre su potencial de inóculo y el de las especies competidoras.

Los trabajos experimentales realizados con *Fusarium roseum* f. sp. *cerealis* (*F. culmorum*), *Cochliobolus sativus* (forma conidial *Helminthosporium sativum*), *Curvularia ramosa* y *Ophiobolus graminis* (*Gaunemanomyces graminis*) por GARRET durante años, conforman un modelo de estudio sobre el saprofitismo bastante depurado y son merecedores de una somera exposición que permitirá hacerse una idea de que las aproximaciones teóricas anteriores son fruto de dicha investigación.

Desde hacía bastante tiempo se conocía que *F. culmorum* era un vigoroso competidor saprofitico, mientras que *O. graminis* era un débil competidor. Ambos eran capaces de colonizar la paja de trigo que se usó como sustrato para conocer la colonización saprofitaria. Por otro lado, *Curvularia ramosa* no parecía producir, durante la colonización, sustancias antifúngicas; sin embargo, *C. sativus* produjo sustancias antifúngicas. Y, aunque parezca paradójico, *C. sativus* era más sensible a las sustancias antibióticas ensayadas.

Al enterrar las pajas de trigo en diferentes proporciones de un suelo se encontró como:

- *F. culmorum* y *Curvularia ramosa* son saprofitos vigorosos, mientras que *O. graminis* y *C. sativus* son poco vigorosos, débiles. Hasta el punto de que mientras que *F. roseum* colonizaba las cañas de trigo en todo su volumen expuesto, *O. graminis* lo hacía superficialmente. Es decir, *O. graminis* se quedaba atrás. Esta diferencia de crecimiento era marcadamente mayor en las cañas del trigo enterradas en el suelo que en una placa de agar.
- La débil capacidad saprofitaria de *O. graminis* y de *C. sativa* se debe a los fungistáticos emitidos por los microorganismos del suelo y a su baja capacidad para penetrar en el tejido de las pajas de trigo.
- En otro trabajo realizado en Australia con *C. sativus* y *F. culmorum* (además de *Gibberella zeae* y *Colchliobulus spicifer*) se ensayaron las temperaturas de 10, 20 y 30°C sobre la colonización saprofitaria competitiva. Los 4 hongos ensayados colonizaron el máximo de las pajas de trigo a la temperatura más baja: 10°C.

La explicación (teniendo en cuenta que su temperatura óptima en el laboratorio sobre agar nutritivo está en torno a 25°C) no era que la temperatura actuaba sobre la capacidad de colonización saprofitica de los hongos. Los autores del trabajo sugirieron que dicha temperatura disminuía el potencial de inóculo de los saprofitos competidores más de lo que lo disminuía en los 4 hongos del ensayo. Y ponían un ejemplo ilustrativo: el efecto de la temperatura sobre la muerte de plántulas en preemergencia, que puede ser mucho mayor por retardar la emergencia concediendo así ventaja a los patógenos. Es decir, la temperatura afecta más a las plantas (retraso) que el retraso sobre la actividad fúngica.

Existe una dificultad, no pequeña, cuando se define el potencial de inóculo: evaluar la energía de crecimiento de un hongo para la colonización del sustrato. Esa energía fue evaluada con *Fusarium roseum* f.sp. *cerealis* (*F. culmorum*) que fue criado y crecido en un mismo medio de cultivo donde variaba el nivel de nutrientes. En un caso se utilizó el medio con su composición habitual de glucosa 20 g·l⁻¹ y con otra veinte veces menor (1 g·l⁻¹) de glucosa. Los resultados fueron muy significativos: las conidias producidas en el medio más rico eran más infectivas en esquejes de clavel, como expresaba el índice de enfermedad. Sin embargo la germinación fue mayor en el medio más pobre (87%) que en el más rico (78%). Es, por tanto, imposible separar el efecto de los nutrientes exógenos que alimentan al inóculo del potencial de inóculo.

En este mismo sentido el trabajo de COUETAUDIER (1989) define el determinismo de la competición entre poblaciones de *Fusarium* en suelos supresivos y conductivos a la fusariosis vascular.

1.6.4. Ejemplos históricos sobre la influencia de algunas actividades agrícolas en la microbiota fúngica

Partiendo desde esta perspectiva del comportamiento saprofitario de los hongos, en suelos cultivados parecería lógico pensar que intervenciones en el suelo proporcionasen información sobre ese papel de los hongos habitantes del suelo que se han descrito en el medio natural. Bien es cierto que ninguna labor agrícola tiene una interpretación lineal.

Según SUBBA Rao (1999), las fluctuaciones estacionales no son frecuentes en el número de hongos presentes en el suelo en zonas no cultivadas. Las prácticas culturales, incluyendo la rotación de cultivos y las aplicaciones de fertilizantes y desinfectantes, influyen en la naturaleza y composición de las especies fúngicas. También indica que la cantidad de materia orgánica presente en el suelo tiene una relación directa con el número de hongos que se encuentran en el suelo ya que la mayoría de ellos tienen una nutrición heterótrofa.

Los hongos del suelo, como cualquier otro microorganismo, son críticos al ambiente del mismo (DALAL, 1998). Pueden actuar como vía de entrada o salida para muchos elementos y como agentes de transformación de nutrientes y de degradación de plaguicidas.

Según DALAL (1998), la desinfección del suelo altera la composición microbiana del suelo potenciando colonizadores beneficiosos o reduciendo perjudiciales de la rizosfera del cultivo.

Si las labores agrícolas modifican la microbiota fúngica, como parece probado, sería interesante comprobar esa modificación en el cultivo de pimiento cuando se abona el suelo, se dan tratamientos de desinfección, se riega el suelo o cuando se hace un monocultivo. A continuación, se exponen algunos casos:

Variación de la microbiota fúngica en suelos que han sido tratados con el mismo tipo de abono y dosis a los largo de más de 50 años

El trabajo de GILLEMAUT y MONTEGUT (1956) realizado en la Estación Agrícola de Grignon (Francia), muestra que al abonar el suelo, los hongos se modificaban en dos sentidos: por un lado entraban a formar parte del suelo nuevos organismos y por otro, la adición de nutrientes (abono) favorecía el desarrollo de

nuevas especies y de las ya existentes. Algunas de estas especies estaban ligadas a las partículas de abono, cuando estas se desintegraban desaparecían aquellas. Otras nuevas parecían capaces de instalarse por sí mismas.

La comparación de los hongos de parcelas fertilizadas con estiércol durante mucho tiempo con las abonadas y no enmendadas hizo comprobar que en éstas últimas aparecían más de 10 especies vinculadas al abonado, entre otras: *Aspergillus nidulans*, *A. restrictus*, *Penicillium vermiculatum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Microascus*, *Melanospora*. El estercolado favorecía a los ficomicetos, ascomicetos y entre los deuteromicetos, a *Trichoderma*.

Los autores comprobaron, igualmente, que el abonado con fertilizantes minerales daba resultados comparables a los obtenidos con el estiércol, y se favorecen especialmente los *Penicillia*, especialmente: *P. liliaceum* y *P. canescens*. Así se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Efecto de los fertilizantes del suelo sobre la densidad de dos especies de *Penicillium*. Se expresa en % sobre el número total de colonias aisladas)

	Abonado con estiércol	Abonado con N P K	Sin fertilizantes desde	
			1902	1875
<i>Penicillium liliaceum</i>	15	35	27	23
<i>Penicillium canescens</i>	31	43	15	11

Fuente: BURGUES (1960).

De antemano no parecen muy importantes las diferencias tanto si se abona como si no se añade nada. Hay que especificar que los suelos estudiados de la estación de Grignon (Francia) se cultivaban ininterrumpidamente con un año de trigo y el siguiente de remolacha, donde existían parásitos fúngicos de ambos cultivos.

Efecto de las labores culturales sobre la microbiota fúngica

Se ha comprobado que después de la roturación y volteo del suelo las poblaciones de bacterias, actinomicetos y hongos aumentan para después menguar progresivamente. Parece lógico imaginar que algunas especies entran a formar parte del suelo como consecuencia del enterrado de los restos vegetales. Así parece suceder en los rastrojos de trigo con *Cladosporium*, que progresivamente desaparecía después de introducir los restos de cosecha. El hongo parece que no podía sobrevivir en el suelo. Sin embargo, *Fusarium oxysporum* y *Penicillium* no parecían guardar relación alguna con la labor del arado.

Efecto de los tratamientos desinfectantes del suelo

Un hecho observado desde antiguo en lo que concierne a la productividad del suelo es referido por BURGES de esta manera: “El crecimiento prolongado de una cosecha sobre un suelo nos lleva a lo que se ha denominado a la ligera “mal del suelo”, como ocurre con el “mal del lino” o el “mal de los agrios”. A veces puede observarse que la enfermedad se debe a un acúmulo de unidades infecciosas de un microbio patógeno a un nivel en el que el desarrollo satisfactorio de la cosecha resulta ya antieconómico. Otras veces no satisface una explicación tan sencilla del fenómeno. A menudo la esterilización del suelo mejora notablemente la situación. Es difícil, después de casi 50 años, enmendar al autor, puesto que refiere de manera sencilla y resumida los problemas que el agrónomo se encuentra en el campo. Problemas que le llevan, casi irremisiblemente, a desinfectar el suelo. Desinfección que enmascara no pocas veces ese fenómeno que BURGES recoge en la frase: “otras veces no satisface una explicación tan sencilla”. Esa insatisfacción encierra, posiblemente, el fenómeno de “tierras cansadas” o “fatiga del suelo”. Tema esencial de este trabajo de tesis doctoral.

Cuando se “esteriliza” el suelo, se debe ser consciente de que tal “esterilización” no se alcanza nunca en el campo. El proceso es una desinfección en el que se produce un descenso del número de microorganismos, pero no su completa eliminación. Ya, en 1960, BURGES refería que no se conocía la naturaleza de los cambios provocados por la desinfección del suelo, fuera esta parcial o total. Aún cuando se tratase de un organismo patógeno, resulta difícil poner en claro la relación entre la destrucción preferente del microorganismo patógeno y la modificación del resto de la microbiota no patógena: ¿por qué el microorganismo fitopatógeno ha de situarse en desventaja con respecto al resto de la microbiota?. ¿Realmente se sitúa en desventaja? ¿Qué se modifica en el suelo después de una desinfección? Este trabajo de tesis trata de aproximarse a esos cambios supuestos en los suelos cultivados bajo invernaderos con pimiento.

Estos cambios de la desinfección del suelo abarcan otro aspecto poco estudiado, y es aquél que hace al suelo mucho más productivo durante algún tiempo. Es, también, sobre este aspecto sobre el que este trabajo trata de buscar una explicación en el modelo estudiado. En otro tiempo, este aumento de la fertilidad se atribuyó a la destrucción de los protozoos que consumían gran cantidad de bacterias del suelo. Se pensaba que las grandes poblaciones bacterianas eran las responsables de la mejora observada, en la productividad del cultivo. Más tarde se especuló con que tal efecto era debido a la liberación de nitrógeno a partir del nitrógeno orgánico presente en el protoplasma microbiano, aunque existen también cambios de las propiedades físicas del suelo.

BURGES (1960) refiere así los cambios en las poblaciones microbianas del suelo después de la desinfección: “Inmediatamente después de la esterilización

sobreviene un demoramiento de la población del suelo, aunque ello va generalmente seguido de un gran aumento de aquella, varias veces mayor al inicial. Luego se produce un descenso gradual para volver a alcanzar el número que tenía en principio. Los organismos que aparecen después de la esterilización pertenecen a un reducido número de especies y la nueva formación de las colonias es lenta; normalmente son varios meses”.

Estas reflexiones, se reflejan con los ejemplos que BURGES toma para hacer la anterior generalización:

■ **Ejemplo 1:** Tomado de WARCUP (1951).

El experimento consistió en desinfectar mantillo utilizado en los viveros o plantíos forestales. Se aplicaron dos tratamientos:

- vapor de agua (100°C) con tubos enterrados a 25 cm de profundidad.
- formalina al 4% a razón de 2,4 l·m⁻²

Los análisis previos, antes de tratar, demostraron que en el mantillo había más de 140 especies de hongos, de las cuales unas 55 aparecían con frecuencia.

- **Vapor de agua:** Inmediatamente después de la desinfección no aisló ningún hongo hasta los 25 cm de profundidad, y a 36 cm el número de 55 especies se redujo a 36. A las 10 semanas del tratamiento los habitantes eran, fundamentalmente, *Mortierella*. Dieciocho meses después del tratamiento el número de especies y colonias era mucho menor que en los suelos no tratados. Entre los hongos aislados se encontraba *Sycephalastrium* que no se aisló en el suelo sin tratar y que parasitaba a las especies de *Mortierella*. Algunos hongos como *Absidia*, *Mucor*, *Acrostalagnus*, *Chaetomiun* y *Volutella* comunes en los suelos no tratados eran raros en el suelo. Se pensó que estas especies habían sido transportadas por el viento pero las placas trampa no permitieron hacer firme esta suposición.
- **Formalina:** Dieciocho meses después de la aplicación sólo aparecían la mitad de las especies fúngicas aisladas antes de desinfectar. El principal agente fúngico que entraba a formar parte de la microbiota del suelo desinfectado con formalina era *Trichoderma viridae*, que parecía proceder de las capas del suelo por debajo de 12 cm que era la profundidad alcanzada por la formalina.

La microbiota bacteriana tenía una dinámica diferente en ambos tratamientos, aunque con algunas diferencias entre uno y otro desinfectante. Cuando se utilizaba vapor de agua se reducía de manera inmediata, pero pocos días después se apreciaba un rápido aumento (del orden de 10 a 20 veces más que en el nivel original). Este incremento podía permanecer varias semanas y descender al doble del original para, después de va-

rios meses, volver al nivel poblacional original. En el caso del desinfectante químico se observó algo parecido pero ampliándose los plazos temporales. Estos retrasos se suponían como respuesta a los residuos del químico que permanecían en el suelo.

Algo que llamó la atención en estos experimentos es que el extraordinario incremento de la población bacteriana se hiciera a costa de los microbios zimógenos, especialmente por haberse encontrado, después de la desinfección, un considerable aumento del amoníaco, lo que supondría la desaminación rápida de las proteínas. Este aumento del amoníaco parece auspiciado por una notable reducción de los organismos nitrificantes que parecen tener una alta susceptibilidad a los tratamientos de desinfección al suelo. Otras hipótesis fueron contempladas.

■ Ejemplo 2: Tomado de MARTIN (1950).

En este ejemplo se trataba de evaluar la acción de diferentes tratamientos a un suelo en el que se habían cultivado cítricos durante un largo periodo y donde el crecimiento de los árboles se vio comprometido, posiblemente, por microorganismos del suelo. ¿Se trataba de un problema de fatiga?. Posiblemente sí, al no citar patógenos y enfermedades. En la actualidad los problemas de replantación de cítricos han sido objeto de estudio para buscar alternativas al BM recomendado para tales replantaciones).

En la Tabla 8 se resumen los resultados tal y como los presentó BURGÉS (1960).

Tabla 8. Efecto de diversos fitosanitarios sobre el número de microorganismos en un suelo que estuvo plantado con cítricos

Testigo no tratado		Disulfuro de carbono		D-D				Dibromuro de etileno		Cloropicrina			Ditame o Nabam		Hexacloro-ciclo-hexano (HCH)	
Intervalos después de los tratamientos (días)																
5	180	5	180	5	30	90	180	5	180	5	90	180	5	180	5	180
Número aproximado de bacterias (10^6 UFC·g ⁻¹ suelo seco)																
10	9	27	9	3	44	71	54	19	9	4	18	17	4	36	11	8
Número aproximado de hongos (10^3 UFC·g ⁻¹ suelo seco)																
63	50	1	12	0	18	920	165	20	16	0	0	1	0	24*	6	33
Número total de especies de hongos identificados																
23	25	4	5	0	2	2	4	20	21	0	0	2	0	13	5	19

45·10⁴ levaduras (UFC·g⁻¹ suelo seco)

D-D = mezcla de dicloropropano + dicloropropileno (en la actualidad se comercializa como D-D el 1-3 dicloropropileno), Ditame = fungicida a base de etileno-bis- ditiocarbamatodisódico

El ejemplo seleccionado es muy apropiado —téngase en cuenta que fue publicado en 1950— puesto que varias de estas sustancias han sido ensayadas para el control de patógenos del suelo en la búsqueda de sustitutos del bromuro de metilo: ¡casi cincuenta años después!. Pero es rarísimo encontrar valoraciones de la microbiota fúngica y bacteriana de los suelos tratados en las actuales publicaciones deudoras del programa mundial de eliminación del BM auspiciado por el Protocolo de Montreal.

Por lo tanto, en el ensayo se comparan 4 fumigantes de suelo (disulfuro de carbono), DD, (dibromuro de etileno y cloropicrina) con un fungicida derivado del ácido carbámico (Ditane o Naban) y un insecticida clorado (lindano o HCH). Entre los fumigantes del suelo, dos han sido reconocidos como nematocidas e insecticidas del suelo (dibromuro de metilo o dibromoetano y DD), uno como desinfectante de graneros (disulfuro de carbono) y la cloropicrina como desinfectante general de suelos.

El papel, inmediato a su aplicación, como bactericidas en el suelo del naranjal no deja muchas dudas interpretativas cualitativas (valgan los números como orientación, no se pretende más):

Tienen efecto destructor sobre las bacterias a los 5 días después de tratar: D-D, cloropicrina y naban. Dicho efecto no permanece en el tiempo.

Tienen efecto destructor sobre la densidad de hongos a los 5 días después de la aplicación: disulfuro de carbono, D-D, cloropicrina y naban. Sorprende el efecto más leve del HCH y del dibromoetano, puesto que no han sido recomendados para el control de hongos.

Sólo en la cloropicrina se nota un efecto persistente a los 6 meses sobre la densidad de los hongos, que no tienen un marcado efecto bactericida.

Si se exceptúa el dibromoetano, todos los demás tratamientos, incluido el insecticida HCH, tienen un efecto apreciable sobre la disminución de especies fúngicas identificadas.

En este experimento, un mes después de la desinfección, se plantaron tomates y naranjos. En el caso de la cloropicrina se notó un incremento en el vigor de los naranjos durante los dos primeros meses.

Parecían necesarias estas reflexiones para ajustar los resultados que se presentan en este trabajo. Lo burdo de esta investigación, no por ello innecesaria, contrasta con los resultados comentados de RODRÍGUEZ MOLINA (1996), RODRÍGUEZ MOLINA *et al.* (2000) y GARRET (1970). Trabajos extraordinarios pero que ponen en evidencia la dificultad interpretativa de otras muchas investigaciones,

basadas en cuantificaciones poblacionales y en ecología microbiana “de laboratorio”. Lo cual es un logro, pero que no nos han dotado de armas para interpretar los resultados aquí presentados de una manera más matizada y útil.

1.7. OBJETIVOS

Varios han sido los objetivos a los que se ha pretendido dar respuesta con el planteamiento de este estudio.

En primer lugar, y tal y como se ha estructurado la exposición de los resultados, ha sido intentar conocer qué ocurre a nivel microbiológico (en este caso, a nivel fúngico, teniendo siempre en cuenta las limitaciones de los análisis de suelo) cuando se desinfecta el suelo de un invernadero de pimiento en el que se viene realizando sistemáticamente un monocultivo, cuáles son los cambios que tienen lugar, ¿se reduce o se multiplica determinada microbiota fúngica?, ¿ocurre siempre lo mismo independientemente del empleo de un determinado desinfectante?

En segundo lugar, se pretendió indagar acerca de los cambios, si los hubiere, que a nivel microbiológico (desde el punto de vista fúngico) pudieran tener lugar en el suelo conforme avanzaba el desarrollo de la planta, cuál era la carga soportada en el suelo al finalizar el cultivo, y si la humedad ejercía alguna influencia o no sobre las poblaciones fúngicas. Para ello se estudió la posible variación de las mismas en determinadas zonas de las parcelas objeto de estudio.

También se intentó medir el efecto de los desinfectantes empleados sobre la altura de las plantas y las producciones obtenidas, así como establecer alguna relación, si la hubiere, con las densidades fúngicas medidas.

Por último, se planteó la necesidad de conocer el papel que aquellas especies aisladas mayoritariamente tenían sobre las plantas al inocularlas en condiciones controladas en cámaras de cultivo.

Material es y métodos generales

**MATERIALES Y
MÉTODOS GENERALES**

2. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

Debido a la diversidad de experimentos, se ha creído conveniente organizar los materiales y métodos fraccionados. Por un lado, los que son compartidos por todos los ensayos se han incluido en Materiales y métodos generales, dejando para cada apartado los que son específicos de los ensayos contenidos en él.

2.1. TÉCNICAS DE ESTUDIO DE LA MICROBIOTA FÚNGICA DEL SUELO

2.1.1. El muestreo

Han sido numerosas las variantes presentadas en los diferentes invernaderos en los que se ha basado el trabajo. Por ello, y tal y como se detalla para cada caso en el apartado 3, unas veces se contó con muestreos antes del tratamiento de desinfección y otras, el trabajo se limitó a conocer las variaciones sufridas en la microbiota fúngica de los suelos a lo largo de la campaña de cultivo.

En todos los invernaderos y zonas de muestreo, se tomó una muestra compuesta de cinco submuestras que se cogieron siguiendo un diseño al tresbolillo sobre dos de las líneas de cada parcela elemental, alternando los puntos de recogida de una línea a la otra (Figura 5); de esta forma queda mejor representada la parcela.

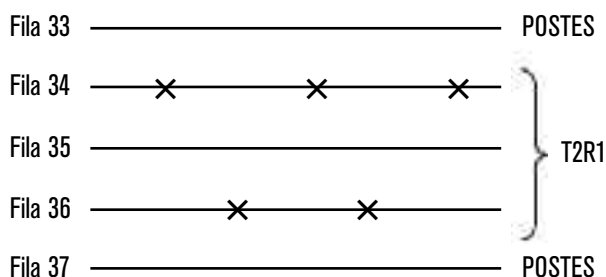


Figura 5. Esquema de la forma de muestrear el suelo de la rizoplanea en las líneas de cultivo dentro de una repetición de un determinado tratamiento.

La forma elegida, se ajusta al planteamiento de los diferentes tratamientos de desinfección efectuados en cada uno de los invernaderos donde se llevaban a cabo emparejadamente estudios sobre las alternativas al bromuro de metilo. Dicha forma, difiere así de otras metodologías de muestreo tales como el cinco de oros empleado por RODRÍGUEZ MOLINA (1996) donde tomaba una muestra en cada vértice de la parcela objeto de estudio y una quinta muestra en el centro del rectángulo formado.



Figura 6. Submuestra de suelo de la rizoplana de una planta, que componía la muestra de la parcela.

En cada uno de los puntos de muestreo, se retiró la capa superficial de tierra, de unos 2 cm para proceder a la toma de la submuestra de los 10-12 cm superficiales con una azada. El peso de cada submuestra (Figura 6) era de aproximadamente, unos 300 g. La metodología de muestreo fue similar a la descrita por RODRÍGUEZ MOLINA (1996), RODRÍGUEZ MOLINA *et al.* (2001) y DE CAL *et al.* (2004, 2005).

Las cinco submuestras se introdujeron en una misma bolsa de plástico para componer así la muestra de cada parcela (RODRÍGUEZ MOLINA, 1996; RODRÍGUEZ MOLINA *et al.*, 2001; GRANADOS y WANG, 2005).

Una variante de la metodología empleada, fue la de GONZÁLEZ (1985) que siguió el método que propusieron HAU *et al.* (1982) para *Sclerotium rolfsii*, en el que tomaban entre 3 y 15 muestras, en función del tamaño de la parcela estudiada, siguiendo un recorrido en zigzag.

Para RODRÍGUEZ MOLINA (1996), el establecimiento de una estrategia de muestreo adecuada solamente es posible si se conocen los límites de la variabilidad en el suelo de la población del organismo a estudiar, es decir, si se conoce la heterogeneidad y su distribución. En la práctica, se hace necesario elegir una estrategia de muestreo adecuada, pero en ocasiones, ésta se realiza de forma arbitraria ajustándose a la disponibilidad del ensayo.

En el caso de evaluar el efecto de los diferentes desinfectantes sobre la microbiota fúngica antes y después de los tratamientos de desinfección, se tomaron muestras de suelo al final de la campaña de cultivo, justo antes de arrancar la plantación (generalmente, a finales de julio). Esto venía a ser aproximadamente dos semanas antes de realizar los tratamientos de desinfección mediante biofumigación y/o solarización y sus combinaciones, y un par de meses para el caso de los tratamientos con desinfectantes químicos. De esta forma, se partía de la

misma referencia en el muestreo: todas las muestras habían soportado la densidad de hongos presente al final del cultivo, sin dejar tiempo al suelo a recuperar algunas de sus propiedades en ausencia de cultivo.

Una vez realizada la desinfección, el muestreo correspondiente se llevó a cabo aproximadamente, entre quince días y un par de meses después de levantar los plásticos (empleados en la mayoría de los casos) y haber hecho las labores de preparación del terreno, y a su vez, entre quince días y un mes antes de la plantación, habitualmente efectuada entre la última semana de diciembre y la primera de enero.

Cuando el objeto de estudio era conocer la variación habida en el suelo respecto a la población fúngica, los muestreos se vinieron realizando aproximadamente cada ocho-diez semanas en la primera campaña de estudio, y cada seis semanas en las siguientes campañas para intentar detectar mejor los posibles cambios.

2.1.2. La preparación de las muestras de suelo

Una vez recibidas del invernadero las muestras en el laboratorio, se colocaban en bandejas de plástico forradas con papel de filtro secante. Ahí se procedía cuidadosamente a la mezcla del suelo, de forma que quedara lo más homogénea posible, eliminándose las piedras que hubiera y desmenuzando los posibles terrones formados, provistos de guantes para cada muestra.

Siguiendo las indicaciones de TELLO y LACASA (1990), TELLO *et al.* (1991) y RODRÍGUEZ MOLINA (1996), las muestras se sometieron a un proceso de desecación, trituración y tamizado. La desecación se hizo a temperatura ambiente (Figuras 7 y 8), durante un tiempo variable (entre 7 y 10 días) según la humedad de la muestra a su llegada al laboratorio.



Figuras 7 y 8. Detalle de la muestra de suelo puesta a secar una vez recibida en el laboratorio (izqda.) y muestras de suelo apiladas para secarse (dcha.).

Para la trituración, se empleó un mortero de porcelana y para el tamizado, un tamiz de 200 μm de luz (Figuras 9 y 10) que se colocaba en un vibrotamizador marca Alresa®, capaz de alcanzar 2.500 r.p.m., diferenciándose así ligeramente de WOLCAN *et al.* (1999) que empleaban un tamiz de 500 μm y de DE CAL *et al.* (2005) que utilizaban un tamaño de luz de 1mm. Tanto el mortero como el tamiz se lavaban y se desinfectaban entre muestra y muestra flameándolos con alcohol.



Figuras 9 y 10. Bandejas de plástico cubiertas con papel de filtro donde se dejaban a secar las muestras de suelo para proceder posteriormente al tamizado (izquierda). Tamizado con ayuda de un vibrotamizador (derecha).

2.1.3. Método analítico

En general, las técnicas empleadas para conocer la composición microbiológica de los suelos, se basan, en la dispersión de una muestra de tierra en un medio de cultivo apropiado. Esta dispersión, puede conseguirse mediante dos procedimientos:

- El primero de ellos, se basa en el método de las suspensiones- diluciones, según el cual se prepara una suspensión de la tierra en agua y de ella se toman volúmenes concretos al que se incorpora el medio de cultivo en placas de Petri (TELLO *et al.*, 1991, 1992).
- El segundo, es la dilución en placa, descrito por WARCUP (1950, 1960), que incorpora la tierra, previamente triturada y pesada, directamente al medio de cultivo en estado de surfusión próximo a la temperatura de solidificación. La siembra directa en placa ha sido empleada para estudios cualitativos de los hongos de la rizosfera (PARKINSON, 1957).

Las muestras preparadas para su estudio se analizaban según los dos procedimientos anteriormente mencionados, también empleados en los trabajos de HUSSEIN *et al.* (2003).

En el primer caso (suspensiones-diluciones) el suelo se le añade al medio agar-malta acidificado con ácido cítrico en forma de suspensión en agua estéril; en el segundo (dilución en placa), el suelo se incorpora al medio, en nuestro caso, el selectivo para *Fusarium*, ideado por KOMADA (1975).

Cuantitativamente, tal y como señalan TELLO y LACASA (1990) y RODRÍGUEZ MOLINA (1996), no son comparables las cuantificaciones del inóculo realizadas sobre los dos medios, ya que algunas especies de *Fusarium* pueden detectarse en el medio agar-malta acidificado y no en el selectivo, pudiendo atribuirse este hecho a la naturaleza o composición del propio medio de cultivo.

Este último hecho, pudiera deberse a diferentes razones: a la densidad de los propágulos en el suelo o a la propia competición nutritiva entre microorganismos muy próximos fisiológicamente y capaces de ocupar un mismo nicho ecológico.

Para preparar diluciones en placa con un alto número de colonias por unidad de peso, JOHNSON y MANKA (1961) diluían el suelo con arena estéril, pero en este caso, nunca se hizo necesario por encontrarse el número de colonias dentro del rango factible de conteo (menos de 300 colonias por placa de 9 cm de diámetro exterior). Sin embargo, en este punto TELLO *et al.* (1991, 1992), prefieren que ese número sea menor a 100 colonias, cuando se computan hongos.

2.1.3.1. Análisis para conocer la microbiota fúngica total

La técnica de las suspensiones-diluciones se ha empleado a lo largo del trabajo para conocer los hongos comúnmente pobladores de los suelos cultivados de pimiento en invernadero.

El empleo de la metodología para conocer la microbiota fúngica presente total coincide con otros trabajos realizados por SACKENHEIM *et al.* (1996), SUBBA RAO (1999), MANDEEL (2002), ZHENG YOU *et al.* (2004) o DE CAL *et al.* (2004; 2005) con similares fines. Tal y como señala HAWEN (1990), numerosas han sido las técnicas empleadas para medir la biodiversidad de comunidades microbianas de la rizosfera. La mayoría de los estudios se han basado en procedimientos de dilución de placas con medios de cultivo selectivos, en un intento de enumerar grupos específicos de microorganismos.

Son muchas las variaciones encontradas en la bibliografía respecto a la técnica: sirva de ejemplo mencionar que en los trabajos de GAETÁN y MADIA (1993)

emplean agar dextrosa patata glucosado al 2% acidificado con ácido láctico y las placas se incuban a $23^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

El método analítico empleado en este trabajo fue descrito por TELLO *et al.* (1991). Cada muestra de suelo de 10 g se añade a un matraz Erlenmeyer con 90 ml de agua estéril. Se agita manualmente para homogeneizar la suspensión y se toman, con una pipeta, 5 ml que son incorporados a un frasco con 45 ml de agua estéril conformando la dilución de rango 10^{-2} . De esta nueva dilución, se cogen 5 ml y se añaden a otro frasco con 45 ml de agua estéril; de esta forma se ha obtenido la dilución 10^{-3} . Así se prosigue hasta el nivel de dilución que se desee, pero la realización de análisis preliminares, condujo a trabajar con la dilución 10^{-3} , ya que las muestras de suelo quedaban así bien representadas. DE CAL *et al.* (2004) realizaron un procedimiento similar al estudiar los efectos de la desinfección del suelo con diferentes sustancias sobre la microbiota de los cultivos de fresón en viveros comerciales.

De la dilución 10^{-3} ya preparada, se analizan 10 ml repartidos en 10 placas de Petri a razón de $1 \text{ ml} \cdot \text{placa}^{-1}$. La operación se desarrolla así: con una pipeta estéril de 1 ml se toma ese volumen y se añade a una placa de Petri estéril. A continuación, se añaden a cada placa de Petri 10 ml de medio agar-malta acidificado fundido (45 g de agar-malta en 1000 ml esterilizados en autoclave 30 minutos a 120°C , a lo que se le añaden al enfriarse hasta $42\text{-}43^{\circ}\text{C}$, 25 g de ácido cítrico por 1.000 ml de agar-malta). Con unos suaves movimientos, se uniformiza el suelo en el volumen agregado de medio. El mismo medio de cultivo fue empleado por JIMÉNEZ y SANABRIA (1997) con el objetivo de identificar microorganismos antagonistas como: *Aspergillus ochraceus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Trichoderma harzianum*, *T. pseudokoningii*, *Penicillium funiculosum*, *Geotrichum spp.* o *Fusarium solani* en suelos cultivados de tomate.

La incubación se realizó en un incubador marca Selecta® a $25\text{-}26^{\circ}\text{C}$ durante 6-8 días en oscuridad.

2.1.3.1.1. CONTEO DE LAS COLONIAS Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Transcurrido el tiempo indicado, se procedió al conteo e identificación de las colonias (Figuras 11 y 12). La identificación se realizó en el microscopio con los objetivos de 10x y 40x con ayuda de las claves taxonómicas habitualmente empleadas en laboratorio. Las colonias no identificadas se purificaron para una clasificación taxonómica posterior.

Elegida la dilución, en este caso, 10^{-3} , los resultados se expresan sumando, por géneros y/o especies, las colonias aparecidas en las diez placas de Petri. De esta manera, se obtienen cifras absolutas (Ejemplo: 25 *Aspergillus*, 117 *Penici-*



Figuras 11 y 12. Aspecto de las placas de Petri con medio agar-malta acidificado en el momento del conteo de las colonias, tras 5-6 días de incubación.

llium, etcétera), que multiplicadas por la potencia positiva de la dilución seleccionada dan como resultado los propágulos·g⁻¹ de suelo seco presentes, donde cada colonia equivale a un propágulo (en el caso elegido, los resultados serían 25·10³ *Aspergillus*, 117·10³ *Penicillium*, etc.).

Como ya se había detallado en el apartado 1.5.1., ROUXEL y BOUHOT (1971) y RODRÍGUEZ MOLINA (1996) señalan, al igual que ya hiciera BURGÉS (1960) que el método de análisis basado en la incorporación del suelo al medio de cultivo comporta una serie de errores fijos debidos a la imprecisión en el conteo de colonias en las placas. Los primeros autores recomiendan que el número de colonias por placa de 90 mm de diámetro esté comprendido entre 12-62, pues de esta forma el error fijo oscilará entre el 1% y el 3%, y será constante cualquiera que sea la concentración de propágulos en el suelo y el peso de tierra analizado.

Debe tenerse en cuenta, como apuntan JOHNSON y MANKA (1961), que cuando la densidad de propágulos en una placa de análisis es relativamente alta, hay un número de propágulos que no llegan a germinar, o que aún germinando su crecimiento resulta inhibido, por lo que no se detectan.

Tal y como advertía BRIERLEY (1927), el método, basado en la numeración de las colonias, resulta imperfecto, y su representatividad sobre lo que ocurre en el suelo muy pequeña, debido a errores derivados de la propia técnica: en primer lugar, algunas especies de hongos no aparecen nunca aunque su presencia en la muestra sea cierta, y en segundo lugar, la cantidad de ciertas especies fúngicas pueden resultar sobredimensionadas debido a dispersiones de las conidias a partir de un conidióforo, como ya se comentó en el apartado 1.5. de la introducción.

RUSSELL (1954) ya lo indicaba al afirmar que cualquier trozo de hifa separada del micelio crece rápidamente en el medio de cultivo y que, de esa forma, se cuentan como colonias separadas; en unas especies solamente las esporas o las piezas de micelio crecen rápidamente mientras que en otras, o bien el hongo crece tan lentamente que es invadido por sus vecinos de desarrollo rápido, o bien no puede desarrollarse.

Las cifras de hongos obtenidas por recuento en placa mediante estos métodos varían desde unos pocos millares a más de un millón por gramo de suelo, y la técnica puede mostrar que las especies presentes dependen de las condiciones del suelo (RUSSELL, 1954).

Pero a pesar de lo indicado con anterioridad, el método empleado puede considerarse como un método cualitativo, resultando útil para comparar, en una misma situación experimental, distintos tratamientos. Como ya refirieron GRIFFITHS y SIDDIQUI (1961), la población presente se puede considerar como un barómetro de la actividad de los hongos en el que lo interesante es conocer el cambio en valor en el tiempo más que el valor absoluto.

2.1.3.1.2. ESTUDIO TAXONÓMICO DE LOS AISLAMIENTOS DE LOS GÉNEROS DE HONGOS COMÚNMENTE AISLADOS

Los micromicetos componentes de la denominada microbiota total se han identificado siguiendo los manuales más comunes en los laboratorios de Patología Vegetal: BARNETT y HUNTER (1972), SUTTON (1980) al igual que hicieran TELLO *et al.* (1992), basándose en las fichas descriptivas de la EPPO. Para la identificación de las especies del género *Fusarium* se utilizaron los trabajos de GERLACH y NIRENBERG (1982) y NELSON *et al.* (1983).

La taxonomía fúngica es dinámica y progresiva, variando de un autor a otro; de ahí que la clave de una breve identificación morfológica radique, principalmente, en el material bibliográfico empleado para dicha identificación.

CARACTERÍSTICAS MÁS RELEVANTES DE LOS GÉNEROS DE HONGOS ENCONTRADOS, EXCEPTUANDO AL GÉNERO *FUSARIUM* SPP.

Aspergillus spp.

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

En 1965, RAPER y FENNELL, señalaron la existencia de 18 grupos y reconocieron 132 especies. Su aspecto en el medio agar malta acidificado es atercio-

pelado mostrando una pigmentación en la superficie verde-azulada, negra o amarillo-verdosa en función de la especie, que se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran las células conidiógenas que originarán las esporas asexuales o conidios.

El micelio es septado, ramificado, generalmente sin colorear, las partes sumergidas en el agar son vegetativas y las aéreas, en su mayor parte, fértiles. Las colonias a menudo, presentan zonas circulares (ABARCA, 2000).

Los conidios de este grupo, son de color verde, y las ascosporas se encuentran en ascas comprendidas en peritecios cuya coloración va de amarilla a rojiza.

El conidióforo, septado o no, surge de una célula basal, que es una célula micelial, agrandada y rodeada de una gruesa cubierta.

Aunque es una estructura unicelular, el conidióforo característico de *Aspergillus*, posee tres partes bien diferenciadas: vesícula (extremo apical hinchado), que sirve de soporte a los esterigmas de los que se desprenden los conidios; estipe (sección cilíndrica situada debajo de la vesícula) y la célula pie (sección final, a veces separada por un septo, que une el conidióforo con el micelio). Sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, llamadas generalmente fiálidas. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálidas se encuentran otras células denominadas métulas. Las cabezas conidiales que sólo presentan fiálidas se denominan uniseriadas y las que presentan fiálidas y métulas, biseriadas.

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

KLICH y PITT (1988) utilizaron dos medios de cultivo y dos temperaturas de incubación para identificar el género: medio Czapeck yeast extract agar (CYA) y agar extracto de malta (MEA) a 37°C y 25°C.

En medio agar- malta acidificado (AMA), el empleado en el trabajo, las colonias de *Aspergillus flavus* son de rápido crecimiento, granuladas, presentan un color que vira del amarillento al amarillo verdoso, el micelio es blanco y apenas visible; los esclerocios, cuando están presentes, son de color marrón, variables en tamaño y forma. El reverso de la placa muestra colonias generalmente incoloras y en ocasiones, amarillo crema.

Presenta cabezas conidiales radiales, estipes de aspecto rugoso, hialinos o de color marrón pálido. Las hifas son septadas e hialinas. La vesícula es esférica, globosa o subglobosa (20-45 µm); las métulas (8-10 x 5-7 µm) ocupan prác-

ticamente toda la superficie de la vesícula en las especies biseriadas y las conidias son globosas o elipsoidales, lisas o ligeramente rugosas de unos 3-6 μm de diámetro (RAPER y FENNELL, 1965; KLICH y PITT, 1988; SUTTON *et al.*, 1998). Los conidióforos tienen aspecto rugoso, incoloro, con una longitud de 800 μm y una anchura de 15-20 μm .

En cuanto a las colonias de *Aspergillus niger*, inicialmente son blancas, que rápidamente cambian al color negro con la producción de conidias. El reverso de la placa muestra colonias incoloras o parcialmente amarillas, pudiendo producir fisuras radiales en el agar (ABARCA, 2000).

Las hifas son septadas e hialinas. Las cabezas conidiales son biseriadas y radiales, los estipes de paredes gruesas, lisos, hialinos, amarillentos o de color marrón pálido, especialmente cerca de la vesícula. Los conidióforos son largos (400-3000 μm), lisos e hialinos que se tornan más oscuros en el ápice y terminan en una vesícula globosa (de 30-75 μm de diámetro). Ésta es casi esférica, ocupando las mótulas toda la superficie de la vesícula. Las conidias son globosas, de color marrón, negro, castaño-negruzco o castaño-púrpura, de 4-5 μm de diámetro normalmente muy rugosas, con bandas pigmentadas (FRAZIER y WESTHOFF, 1978), con crestas irregulares y protuberancias (SUTTON *et al.*, 1998; DE HOOG *et al.*, 2000).

Penicillium spp.

Pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, orden Moniliales, familia Moniliaceae.

Este género comprende varios grupos y subgrupos con unas 150 especies (PITT, 1979). La división del género en grupos amplios se basa en la ramificación de las cabezuelas o penicilios (= pincelito).

Al igual que la morfología microscópica, para diferenciar las especies de *Penicillium*, se utilizan los caracteres fisiológicos macroscópicos, que incluyen el diámetro de las colonias, los colores de los conidios y los pigmentos de las colonias.

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

El género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálidas. Las

ramificaciones se ubican formando verticilos. Si sólo hay un verticilo de fiálidas, el pincel es monoverticilado. Las ramificaciones de un pincel polivericilado son ramas, rámulas, métulas y fiálidas. Los conidios generados en fiálidas suelen llamarse fialoconidios para indicar su origen. En la fiálida, al dividirse el núcleo, se extiende simultáneamente el extremo apical que luego se estrangula separando a la espora recién formada (PELCZAR *et al.*, 1977).

El micelio es tabicado, penetra en el sustrato y después produce hifas aéreas en las que se desarrollan los conidióforos. Los filamentos o hifas alcanzan un diámetro entre 2-3 μm y tienen septos con un poro central que no es visible al microscopio óptico.

Las paredes del estípote, las ramas o las métulas pueden ser lisas, rugosas o equinuladas. La pared de las fiálidas es siempre lisa. Las fiálidas pueden tener forma de ánfora o bien ser casi cilíndricas con la porción apical en forma de cono. El tamaño máximo de las fiálidas es de 15 μm y la parte terminal no supera los 3 μm de largo. Los conidios son esféricos o elipsoidales, unicelulares, hialinos que en masa se ven de color verde, verde azulado, verde aceituna o gris. La pared de los conidios es lisa o rugosa dependiendo de la especie de que se trate.

Es importante poder diferenciar los penicilios de los otros hongos que forman esporas en conidióforos ramificados. El más parecido es el género *Paecilomyces* que tiene fiálidas con el ápice muy alargado, conidios elípticos y colonias de tonos pardos pero nunca verdes. Las especies del género *Gliocladium* tienen fiálidas con el extremo curvado y esporas mucosas que se aglomeran, mientras que los penicilios originan xesporas en fiálidas con un eje de simetría. También las especies de *Trichoderma* forman conidios mucosos que se reúnen en cabezuelas con tonos verdes.

Rhizopus spp.

Se trata de un género de hongos pertenecientes a la subdivisión Zygomycotina, clase Zygomycetes, del orden Mucorales.

Los micelios jóvenes, son multinucleados y no tienen paredes transversales. Las hifas se desarrollan en tres tipos: rizoides ramificados que penetran el sustrato, estolones que crecen lateralmente en la superficie del sustrato juntando las unidades donde se forman penachos de rizoides y las esporangiosporas que se desarrollan hacia arriba de los estolones. Los esporangióforos no son ramificados (de hasta 2 mm \times 20 μm), nacen de un nudo de rizoides y tienen esporangios en sus puntas, esféricos, que se vuelven de un color blancuzco- grisáceo que producen esporas grisáceas asexuales. La reproducción es mediante aplanosporas o, en algunas especies, clamidiosporas.

Las diferentes especies se distinguen entre sí por la longitud de los esporangióforos, el diámetro de los esporangios, la forma de la columela así como por la forma y textura superficial de las esporangiosporas, clave para la diferenciación de unas especies de *Rhizopus* spp. de otras. La temperatura máxima de crecimiento también varía de unas especies a otras.

En el medio empleado, las colonias de *Rhizopus stolonifer* crecen rápidamente, relleno la placa de Petri y maduran en unos cuatro días a 25°C. La textura es típicamente algodonosa, con un denso micelio blanco que se torna gris con el tiempo. El reverso es blanco o pálido. Se reconoce fácilmente por sus espolones hialinos o parduzcos, sus numerosos y pardos rizoides y sus esporangios negros y brillantes.

Trichoderma spp.

Pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, orden Moniliales, familia Moniliaceae. Pertenece a los hongos llamados saprofitos. Habitante común del suelo, se aísla con frecuencia de suelos tanto cultivados como no y en todas las latitudes.

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

Este hongo crece y se ramifica en típicas hifas que pueden oscilar entre 3 y 12 µm de diámetro, según las condiciones del medio en el que se esté reproduciendo. La esporulación asexual ocurre en conidios unicelulares de color verde que generalmente tienen 3-6 µm de diámetro.

Los cultivos crecen rápidamente a 25-30° C en el medio empleado. Las colonias al principio son blanquecinas, suaves, para tornarse verdosas (COOK y BAKER, 1989).

2.1.3.2. Análisis para conocer la microbiota fusárica

Se ha intentado valorar la importancia relativa de los *Fusaria* con respecto al resto de hongos al igual que hicieron TELLO y LACASA (1990), TELLO *et al.* (1992), RODRÍGUEZ MOLINA (1996) y RODRÍGUEZ MOLINA *et al.* (2001) en los estudios de suelos de otros cultivos, por sus posibles implicaciones en los efectos depresivos observados en las plantas de pimiento cultivadas en suelos donde se ha realizado un monocultivo sostenido de esta hortaliza. El análisis selectivo para *Fusarium* se

ha realizado para permitir una mejor diferenciación de especies y facilitar además una comparación cuantitativa entre invernaderos y entre tratamientos dentro de un mismo invernadero, es decir en situaciones diferenciales, tanto en lo concerniente al tipo y características del suelo como en lo relativo a la desinfección del mismo.

Cabe señalar que no todas las especies de *Fusarium* están igualmente adaptadas a la supervivencia en el suelo. BURGESS (1981) dividió el género en tres grupos según su modo de existencia: *Fusaria* aéreos, *Fusaria* del suelo y *Fusaria* de hábitats subterráneos. Las especies incluidas en el grupo de los *Fusaria* del suelo poseen características que las hacen más aptas para vivir en ese medio. Así, las especies *F. solani* y *F. oxysporum* ambas incluidas en este grupo y productoras de clamidiosporas parecen estar más adaptadas a estas condiciones que *F. moniliforme*, más habitual de ambientes subterráneos.

La adición del suelo al medio fundido de KOMADA (1975) se ha empleado para estudiar la dinámica de las especies más frecuentes de *Fusarium*. La técnica, sin embargo, no carece de errores: el medio puede ejercer cierta selectividad sobre ciertas especies de *Fusarium*, o incluso ciertos tipos de propágulos en el suelo (RODRÍGUEZ MOLINA, 1996).

Aunque existen varios medios selectivos para *Fusarium* como el descrito por CASTELLÁ *et al.*, (1997) acerca del agar-verde malaquita que asegura evitar el desarrollo de otras especies de hongos frente al medio de NASH y SNYDER, el agar de dicloran-cloranfenicol o el agar de peptona-PCNB comparados entre sí para el aislamiento de *Fusarium* por ALI *et al.* (1991) y BRAGULAT *et al.* (2004), se eligió el medio KOMADA (1975) empleado por BLOK *et al.* (2000); LANDERAS *et al.* (2004) aunque modificado por TELLO *et al.* (1991) y que se ajusta al análisis de suelos del Sureste peninsular español.

La metodología del análisis se ajusta a la descrita por TELLO *et al.* (1991) para el estudio de suelos de tomate y de clavel, también empleada en trabajos posteriores por BLOK *et al.* (2000), en el estudio de suelos destinados al cultivo de espárrago y sometidos a procesos de biofumigación (WOLCAN *et al.*, 1999; 2000; QUILAMBAQUI, 2005). El método consiste en: por cada muestra a analizar se preparan cuatro botes de plástico con 15-20 g de tierra en cada uno de ellos. Cada bote se toma como una repetición, y se pesa, con una precisión de 0,001 g antes y después del análisis. De esta forma, se determina, por diferencia, el peso de tierra analizado en cada repetición.

El medio selectivo de KOMADA (1975) modificado por TELLO *et al.* (1991) consta de tres soluciones componentes:

- **Solución A:** Asparagina, 2 g; PO₄ HK₂, 1 g; SO₄ Mg·7H₂O, 0,5 g; ClK, 0,5 g; galactosa, 10 g; agar, 20 g; agua destilada, 1.000 ml. Cada uno de estos componentes de esta solución se añade al agua caliente según el

orden indicado, con ayuda de un agitador magnético después de añadir cada uno de ellos para favorecer su disolución. El agitador utilizado fue el modelo Agimatic-E de la marca J.P. Selecta®.

- **Solución B:** Ácido etilen-diamin-tetra-acético (EDTA), 3,75 g; $\text{SO}_4 \text{Fe} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2,78 g; agua destilada, 100 ml. Esta solución se debe mantener en aireación continua durante 24 h antes de su utilización.
- **Solución C:** Pentacloronitrobenzeno (PCNB), 10 g; Oxgall, 4 g; sulfato de estreptomycin, 4 g; $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 4 g; agua destilada estéril, 160 ml. El pH de esta solución se ajustará a 3,8 con ácido fosfórico con un pH-metro modelo PHM 82 de Radiometer Copenhagen®.

Para la preparación del medio, por cada 1.000 ml de la solución A, se añaden 2 ml de la solución B, y el conjunto se esteriliza en autoclave durante 30 minutos a 120° C en un autoclave Raypa, modelo Sterilclav-75., para después añadir 20 ml de la solución C.

El medio se enfría hasta 40-42° C, y se dispensa en placas de Petri de plástico de 9 cm de diámetro, a razón de 10 ml de medio por cada placa. En cada placa de Petri se añade, con una micro-espátula, una pequeña cantidad de tierra (Figura 14), que se homogeneiza en el medio fundido moviendo suavemente la placa. Por cada fracción de suelo o repetición (Figura 13), se prepararon 4 placas (Figura 14), lo que suma un total de 16 placas por muestra.



Figuras 13 y 14. Botes de plástico correspondientes a las cuatro repeticiones con la cantidad de suelo pesada para proceder a su análisis (izquierda). El suelo se añade a las placas con el medio en estado de surfusión (derecha).

La incubación de las placas se realizó en un fitotrón marca SANYO, modelo MLR-350H a 25° C (CABRERA *et al.*, 1990) y 75% de humedad relativa bajo luz fluorescente continua durante un período de 5-10 días. Similar metodología ha sido empleada por GAETÁN y MADIA (1993), MADIA *et al.* (1999) salvo que estos

autores incubaron las placas en cámaras con un fotoperíodo de 12 horas de luz cercana a la ultravioleta.

2.1.3.2.1. CONTEO DE LAS COLONIAS Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Pasado el tiempo de incubación, se procedió a contabilizar las colonias de cada especie de *Fusarium* en todas las placas de análisis. Habitualmente, las densidades de las poblaciones fúngicas en el suelo se expresan en propágulos por gramo de suelo seco, aunque el término propágulo, entendido como unidad de propagación, pueda resultar confuso en algunas ocasiones, pues normalmente se asocia a una estructura fúngica singular, ya sea clamidiospora, conidia, etc.

Para la identificación de las especies de *Fusarium*, se efectuó la observación de las características de las colonias cultivadas en medio Komada bajo microscopio óptico. Paralelamente, con las distintas cepas aisladas se practicaron microcultivos sobre medio cloruro potásico (FISHER *et al.*, 1983) bajo luz ultravioleta continua a efectos de analizar la ontogenia conídica (BOOTH, 1971; NELSON, 1992).



Figuras 15 y 16. Macronidias de *Fusarium solani* (izquierda) y formación de las mismas (derecha).

El estudio realizado por KOMADA (1975) sobre el origen de las colonias desarrolladas en el medio selectivo muestra que éstas tienen su origen en clamidiosporas singulares, o en agregados de clamidiosporas. Por ello, se considera adecuado el término *Unidad Formadora de Colonia (Colony Forming Unit*, en términos anglosajones), abreviado U.F.C., porque no implica ni singularidad ni agregación de estructuras de propagación: una unidad formadora de colonias puede estar constituida por una sola estructura de propagación o por varias. Así, los resultados de los análisis se expresan en número de U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco (TELLO *et al.*, 1992; RODRÍGUEZ-MOLINA, 1996; WOLCAN *et al.*, 1999; DE CAL *et al.*, 2005); en nuestro caso, las cifras corresponden a la media de las cuatro repeticiones, acompañada de su desviación típica. Siendo cuatro el número de repeti-

ciones, la desviación típica es prácticamente igual al error típico para una probabilidad del 95% (ROUXEL y BOUHOT, 1971).



Figuras 17 y 18. Almacenamiento de las placas en cámara bajo luz fluorescente continua (izquierda). Aspecto que presenta la placa Petri con medio Komada preparada para el conteo de las colonias tras 6 días de incubación (derecha).

Tal y como observó RODRÍGUEZ MOLINA (1996), observación ya recogida en el apartado 1.5.5. en cuanto a la repetibilidad de la técnica analítica, cuando un mismo analista repite tras un corto intervalo de tiempo, los análisis de las mismas muestras, obtiene resultados significativamente diferentes. Este hecho no puede atribuirse a algún cambio sufrido por las muestras durante el almacenamiento debido al poco tiempo transcurrido. El método analítico, al ser laborioso, impide que ambos procesos sean idénticos al existir algunos factores que pueden influir en la obtención de resultados diferentes como el ajuste del pH de la solución de antibióticos.

Sólo se podrán comparar U.F.C.:g⁻¹ de suelo entre muestras que han sido analizadas por un mismo analista en la misma tanda de análisis (el mismo día), empleando la misma técnica analítica y los mismos equipos, con el mismo medio de cultivo y la misma cantidad de tierra añadida a cada placa. Por lo que lo más razonable parece ser comparar tendencias y no los valores absolutos en los resultados obtenidos.

2.1.3.2.2. ESTUDIO TAXONÓMICO DE LOS AISLAMIENTOS DE *F. SOLANI*, *F. OXYSPORUM* Y *F. ROSEUM*

Para la identificación de las especies de *Fusarium*, según las indicaciones de WOLCAN *et al.* (1999), se efectuó la observación de las características de las colonias cultivadas en medio Komada directamente en la placa (Figuras 19, 20 y 21) y en ocasiones, con ayuda del microscopio.



Figuras 19, 20 y 21. Aspecto que presentan en medio Komada tras 5-6 días de incubación en cámara las colonias de las distintas especies de *Fusarium* presentes en el suelo de los invernaderos muestreados.

Las especies de *Fusarium* pueden producir tres tipos de esporas denominadas macroconidias, microconidias y clamidiosporas. Algunas especies producen los tres tipos de esporas, mientras que otras no. Las macroconidias se forman en una estructura especial llamada esporodoquio. Pueden producirse también en monofiálidas y polifiálidas en el micelio aéreo. Una monofiálida es un conidióforo con una sola abertura o poro a través del cual la endoconidia es empujada, mientras que una polifiálida tiene dos o más poros (NELSON *et al.*, 1994).

La morfología de las macroconidias no sólo es la clave para caracterizar a las especies sino también al género *Fusarium* en sí. Las macroconidias de las especies de *Fusarium* son de varias formas y tamaños pero la forma de las macroconidias originadas en el esporodoquio por una determinada especie es un rasgo relativamente consistente y estable cuando el hongo crece en sustratos naturales bajo condiciones estándar. Las dimensiones de las macroconidias pueden mostrar variaciones considerables dentro de las especies y deben emplearse los criterios taxonómicos con relativa cautela.

Algunas conidias son intermedias en tamaño y forma, y estas han sido referidas a menudo, unas veces como macroconidias y otras como mesoconidias, siendo esta denominación para designar a las conidias producidas en polifiálidas. Estas conidias se encontraron al principio en *Fusarium semitectum* Berk. & Rav.

Las microconidias se producen en el micelio aéreo, pero no en el esporodoquio. Pueden producirse en falsas cabezas solamente o en falsas cadenas y cadenas tanto en mono como en polifiálidas. Las falsas cabezas tienen lugar cuando queda una pequeña gota o formas húmedas en el extremo del conidióforo y contiene las endoconidias que ellas producen. Las microconidias tienen diferentes formas y tamaños y se producen en cadenas que tienen la base truncada.

La presencia o ausencia de microconidas es un carácter primario de la taxonomía de *Fusarium*. Si están presentes, las claves que se consideran son la forma, el modo de formarse, si está sola, en falsas cabezas, o en falsas cabezas y cadenas. El modo de formación de las microconidias se observa mejor *in situ* o en un sustrato natural en medio agar como el CLA (agar-hojas de clavel).

El tercer tipo de esporas producidas por las especies de *Fusarium* son las clamidiosporas, esporas con una delgada pared rellena de material lipídico que sirve cuando las condiciones del hospedante no son adecuadas o no están disponibles. Las clamidiosporas pueden producirse de forma individual, en parejas, en grupos o en cadenas y la pared externa puede ser lisa o rugosa.

Las siguientes características son, secundariamente, útiles para describir las especies cuando los medios de cultivo se encuentran bajo condiciones controladas de luz, temperatura y sustrato, pero deberían ser consideradas como criterios complementarios a la diferenciación de especies: morfología y pigmentación de la colonia, incluyendo la presencia o ausencia de esporodoquio o esclerocio.

Aunque la forma de la macroconidia formada en el esporodoquio en medio agar-hojas de clavel (CLA) es bastante fiable, la longitud y anchura de la misma es menos estable y debe completarse con las características secundarias.

Según NELSON *et al.* (1994), los cuatro medios habitualmente empleados para la identificación de especies de *Fusarium* son el agar-hojas de clavel (CLA) (FISHER *et al.*, 1982, 1983), agar dextrosa patata (PDA) (NELSON *et al.*, 1983), el medio cloruro potásico (CIK) (FISHER *et al.*, 1983) y el agar suelo (KLOTZ *et al.*, 1988).

El medio CLA tiene la ventaja de promover más la esporulación que el crecimiento miceliar. Se producen conidias y conidióforos en abundancia, su morfología se aproxima a las condiciones naturales y se reduce la variación fenotípica. El valor del medio CLA como medio de crecimiento radica en que hay menos disposición de carbohidratos y contiene un complejo de sustancias, del tipo de las encontradas por las especies de *Fusarium* en la naturaleza. Por tanto, los hongos crecen y esporulan de una manera similar a la que se encuentra en una planta hospedante o en un sustrato natural. Los procedimientos de identificación pueden basarse casi exclusivamente en cultivos crecidos en este medio.

Para NELSON *et al.* (1983), el medio PDA es de gran valor cuando se emplea en un primer momento para tomar nota de la apariencia morfológica que tiene un cultivo, así como su coloración. Como tiene un alto contenido en carbohidratos disponible, promueve generalmente el crecimiento frente a la esporulación. Las colonias que crecen en este medio esporulan débilmente necesitando más de un mes para hacerlo. Las conidias apenas se producen y suelen resultar atípicas. En

consecuencia, con algunas excepciones, el medio PDA apenas es utilizado para realizar observaciones microscópicas.

El medio CIK se emplea para observar la formación de las microconidias en cadenas en especies de la sección *Liseola*. Las especies que normalmente forman cadenas de microconidias, en este medio forman cadenas más largas y abundantes. Las cadenas son más fáciles de observar porque hay menos humedad en la superficie del agar y se forman menos gotas de humedad en el micelio aéreo.

La observación directa bajo el microscopio a los 4-5 días del cultivo en placas de Petri demuestra si se forman o no cadenas de microconidias y puede revelar así la presencia de mono y polifiálidas.

El agar suelo ayuda a promover la rápida formación de clamidiosporas en un buen número de especies de *Fusarium*. Para ello, se toma un gran trozo de inóculo de la parte activa de un cultivo y se pone en el medio agar suelo. En un primer momento, se forman clamidiosporas sobre el trozo de inóculo original pero muy pocas se forman sobre el agar suelo. Los cultivos que normalmente tardan hasta 30 días en formar clamidiosporas, lo hacen en este medio al cabo de 4-6 días.

Por un lado, FISHER *et al.* (1982) describen el medio agar-hojas de clavel (medio CLA) que facilita la formación de esporodoquios que producen macroconidias uniformes en forma y tamaño y a su vez permite la observación de las células conidiógenas. Las ventajas de este medio son corroboradas por NELSON *et al.* (1983) que apoyan su empleo para observar la morfología de conidióforos y conidias de manera uniforme.

Por otro lado, FISHER *et al.* (1982) demostraron la influencia del potencial osmótico del agua del medio de cultivo en la formación de cadenas de microconidias en las especies de la sección *Liseola*. Si se adicionaba cloruro potásico al medio agar-agua para disminuir el potencial osmótico del agua, se originaba una mayor producción de microconidias y una mayor longitud de las mismas. Además, NELSON *et al.* (1983) apuntan que el medio cloruro potásico (medio CIK) facilita la observación de mono y polifiálidas.

Por todo lo expuesto anteriormente, se justifica el empleo de los dos medios de cultivo (CLA y CIK) como ya hizo RODRÍGUEZ MOLINA (1996) con el llamado medio cloruro potásico-hojas de clavel (medio CLA+K), que es una combinación de ambos (8 g de CIK y 15 g de agar por litro, que se dispensa sobre placas de Petri en las que previamente se han dispuesto fragmentos de hojas de clavel esterilizados con óxido de propileno).

El factor fundamental para generar la producción de macroconidias en esporodoquios es el tipo de luz durante la incubación, aparte de la temperatura en al-

gunas especies concretas. El tipo de luz requerida es el ultravioleta próximo con longitudes de onda situadas entre 300 y 400 nm.

Con lo que paralelamente al trabajo realizado, de las distintas cepas aisladas que presentaban alguna confusión, se practicaron microcultivos sobre medio CIA+K bajo luz continua próxima al ultravioleta en un aparato U.V. ESTERIL marca Selecta® (tubo long life PHILIPS, 15W) tal y como se extrae de los trabajos de BOOTH (1971), NELSON *et al.* (1983) y NELSON (1992).



Figuras 22 y 23. Cadenas de clamidiosporas de *F. roseum* obtenidas en medio CIK bajo luz ultravioleta continua.

Para los hongos del género *Fusarium*, dos han sido los criterios adoptados; uno, el proporcionado por el “sistema de las nueve especies” tal y como lo diseñaron MESSIAEN y CASSINI (1968) y otro, el elaborado por NELSON *et al.* (1983). Sin embargo, dada la complejidad del género, las consultas a los trabajos de BOOTH (1971) y de GERLACH y NIRENBERG (1982) han sido necesarias para aquilatar la validez de los resultados obtenidos con los dos sistemas básicamente manejados, y por ajustarse, algunas de sus descripciones más claramente a los aislamientos examinados.

TELLO (1990a; 1990b) presentó algunas reflexiones sobre el género, que son resumidas aquí por su interés.

La taxonomía del género *Fusarium* ha tenido variaciones importantes desde que WOLLENWEBER y REINKING (1934) organizaran el género en secciones para acoger a las especies más afines morfológicamente. La más drástica modificación la aportó la propuesta de SNYDER y HANSEN (1940) al reducir todas las especies y formas a nueve especies. Especies que equivalen a las secciones de Wollemweber y Reinking con algunas agrupaciones, que también desaparecieron. Mientras que la especie *Fusarium oxysporum* ha sido aceptada como única de la sección *Elegans* hasta el presente; y *F. solani* también lo ha sido como

único miembro de las reunidas, por algunos, secciones Martiella y Ventricosum, no ocurrió lo mismo con la especie *F. roseum*, dividida por MESSIAEN y CASSINI (1968) en variedades. Esta especie fue muy contestada y posteriores tratadistas la suprimieron, retornando las variedades a las secciones. Así, *F. roseum* var. *gibbosum* fue colocada en la sección Gibbosum, *F. roseum* var. *culmorum* pasó a la sección Discolor, y así sucesivamente.

En este trabajo se ha mantenido *F. roseum* puesto que aquellas colonias que no presentan conidios o si los presentan estos son macroconidios, se pueden a posteriori identificar en la admitidas actuales secciones y acoplar en especies sin mayor dificultad y sin desviarse de todos aquellos tratadistas que modificaron el sentido de la sección. Así lo ponen de manifiesto los trabajos de RODRÍGUEZ MOLINA (1996) y RODRÍGUEZ MOLINA *et al.* (2001), donde la inmensa mayoría de los aislados de *F. roseum* de los suelos de Extremadura resultaron ser *F. equiseti*, que es una de las especies más estables de la sección Gibbosum (NELSON *et al.*, 1983; GERLACH y NIREMBERG, 1982).

Sin embargo, LESLIE y SUMERELL (2006) en su "Manual para la identificación de especies de *Fusarium*", han propuesto una serie de modificaciones profundas en la taxonomía del género. Ellos sugieren que para definir las especies hay que basarse en tres conceptos: especie morfológica, especie biológica y especie filogenética. Desde esta óptica, la especie *F. graminearum* ha sido dividida en 9 especies. La antigua especie *F. moniliforme*, y toda la sección Liseola, ha sido igualmente fragmentada en numerosas especies. En el mismo sentido (AOKI *et al.*, 2003; AOKI y O'DONNELL, 2006) han dividido a *F. solani* en 26 especies distintas según criterios filogenéticos. Sólo, la forma especializada *F. solani* f. sp. *glycines* ha sido separada en 4 especies en base a criterios morfológicos (especie morfológica), criterios patogénicos (la forma especializada provoca el "colapso de la soja") y criterios filogenéticos. Item más, LESLIE y SUMMERELL (2006) no consideran las secciones en su propuesta de taxonomía puesto que son polifiléticas. Pese a todo, estos últimos autores recomiendan mantener el "actual status taxonómico" (especie morfológica) hasta que no haya una propuesta completa para la taxonomía de *Fusarium*.

Es comprensible que, en un futuro, la cuantificación de especies de *Fusarium* en el suelo puede alcanzar dificultades que lo hagan inabordable, al menos con la relativa facilidad con la cual se puede hacer en la actualidad.

Las observaciones se realizaron a las 48 horas coincidiendo con WOLCAN (1999) con ayuda del microscopio óptico a 60 aumentos, después de la coloración con azul de metileno. Los fragmentos de medio se recortaron y colocaron en un portaobjetos. Añadido el colorante, se colocó el cubreobjetos y la preparación se calentó suavemente hasta fundir el agar, obteniéndose así la preparación. De esta forma, se precisaba la validez de los resultados obtenidos, por ajustarse sus

descripciones a los aislamientos examinados. La identificación se hizo mediante las claves de BOOTH (1971), NELSON *et al.* (1983), SAMSON *et al.* (1995) y las consideraciones de SUMMERELL *et al.* (2003).

Dada la reducida variabilidad de las especies de *Fusarium* encontradas, se ha seguido exclusivamente el criterio taxonómico proporcionado por el “sistema de las nueve especies” de Snyder y Hansen tal y como lo diseñaron MESSIAEN y CASSINI (1968).

Según SANABRIA *et al.* (2002), las características de las colonias, morfología, pigmentación y diámetro de las mismas, pueden ser consideradas si se usa un procedimiento estándar (WINDELS, 1991). En este procedimiento se deben tener en cuenta las mutaciones que ocurren en cultivos artificiales que llevan a diferencias significativas con respecto a la morfología y fisiología (NELSON *et al.*, 1983).

Ningún método basado en criterios morfológicos y/o bioquímicos permite la diferenciación entre los *F. oxysporum* saprofitos, habitantes comunes de los suelos, de los patógenos, ni distinguir las formas especializadas. Solamente los tests sobre el poder patógeno posibilitan esta determinación. *F. oxysporum* se disemina principalmente debido a la formación de esporas asexuales (GÓMEZ-VÁZQUEZ, 1989).

Al cultivarlo en PDA, *F. oxysporum* muestra al principio colonias blanquecinas de aspecto algodonoso que se tornan rosáceas cuando el hongo madura. En ocasiones, alcanza el color púrpura en el centro de la colonia. En medio Komada, el aspecto de la colonia es más raso y rosáceo que en PDA. En medio CIK bajo luz ultravioleta continua, se aprecia una producción exageradamente abundante de microconidios, hialinos y de forma ovoide, que oscilan entre las 6-15 μm de largo por 2-8 μm sobre fiálidas cortas y ramificadas. Los macroconidios ligeramente curvos y tabicados (generalmente 3) oscilan entre 15-35 μm de largo por 3-6 μm de ancho, son llevados por fiálidas que salen de cortos conidióforos.

En medio Komada, *F. solani* desarrolló micelio blanco que en ocasiones tomó tonalidades crema, presentando macroconidios en fiálidas largas y clamidiosporas simples y en parejas. Los macroconidios se forman sobre conidióforos bien desarrollados, ramificados o no, con célula basal y apical diferente del resto de la conidia, de 38-65 μm de largo por 5-8 μm de ancho. Los microconidios se forman abundantemente sobre microconidióforos largos, en falsas cabezuelas, hialinas, cilíndricas, de una a dos células, de 9-16 μm de largo por 3-5 μm de ancho. Las clamidiosporas, con forma redondeada-ovalada, poseen las paredes lisas o levemente rugosas, generalmente en pares terminales o intercaladas, de 8-10 μm de diámetro (GRANADOS y WANG, 2005).

El grupo “roseum” (*F. roseum* (Link) Snyder y Hansen) es el más complejo dentro del género *Fusarium*. En él convergen las mayores discrepancias entre los

especialistas. Ésta fue por tanto una de las mayores razones por las que se requirieron estudios más detallados con otras técnicas.

2.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS INVERNADEROS MUESTREADOS

Dos tipos de invernaderos se han utilizado para evaluar los efectos de las desinfecciones y de las variaciones de la microbiota en los suelos cultivados de pimiento. De todos ellos se proporcionan las características y los antecedentes e historial de los cultivos realizados con anterioridad al inicio de los ensayos. Todos ellos se localizaron en el Campo de Cartagena y sur de la provincia de Alicante, tal y como se señala en la Figura 24.



Figura 24. Localización de los invernaderos donde se realizaron los continuos muestreos en el Campo de Cartagena y sur de la provincia de Alicante.

Fuente: Google Earth 2007.

A) Invernaderos experimentales

Invernadero H

Se halla en la finca experimental Torre Blanca que el IMIDA tiene en el Campo de Cartagena, en el paraje Los Camachos, junto a Dolores de Pacheco, dentro del término municipal de Torre Pacheco (Murcia). Es de tipo capilla (Figura 25), dispuesto en la orientación Este-Oeste, con ventilación lateral en los lados

mayores (30 × 12m) y se viene cultivando con pimiento desde 1993, sin que se realizaran tratamientos de desinfección del suelo en preplantación. Anteriormente se habían realizado cultivos de tomate, gerbera, stáctice, limonium o espárrago. El suelo es franco-arcilloso, de pH 7,8 y, aproximadamente, un 2,5% de materia orgánica. Cuenta con sistema de riego por goteo automatizado, realizando fertirrigación. A partir del año 1997 comenzaron a ensayarse en él diferentes desinfectantes químicos, en la búsqueda de alternativas al bromuro de metilo. En los años en que se han realizado cultivos de pimiento no se ha detectado la presencia ni de *Phytophthora capsici* o *P. parasitica* ni de *Meloidogyne incognita*. Tampoco se han detectado problemas de muerte de plantas por causas abióticas, ni alteraciones producidas por otros patógenos telúricos.



Figura 25. Invernadero H, donde se ensayaron alternativas químicas al bromuro de metilo.

Las prácticas culturales (riego, fertilización, entutorado, etc.) fueron las habituales en la zona. El deshierbe fue manual. El control de plagas y enfermedades se realizó bajo planteamientos de control integrado, con sueltas de enemigos naturales, aplicación de productos biológicos y disposición de mallas densas en las aperturas de ventilación y de sublimadores de azufre para el control del oidio. No se realizaron tratamientos al suelo durante el cultivo.

Las parcelas elementales de cada tratamiento tenían 33 m² (11 × 3 m), albergando tres filas de plantas separadas 1 m entre sí, en las que se plantaban 27 plantas separadas 0,40 m dentro de las líneas, dispuestas en la orientación Norte-Sur, dejando un pasillo de 1 m en el lateral Sur y de 0,50 m en el lateral Norte.

Invernadero CH

También se ubica en la finca experimental Torre Blanca del IMIDA. Se construyó en 1988 en un suelo que había albergado un cultivo de nectarina desde 1975 hasta 1985, quedando inculto los tres años siguientes. Desde 1989 hasta 1999 se cultivó

tomate, pepino dulce (*Solanum muricatum*) y *Physalis*, mediando entre los cultivos años de barbecho, no mediando tratamientos al suelo en preplantación. Desde el año 1999 se ha cultivado de pimiento, realizándose una desinfección del suelo con bromuro de metilo en la campaña 2000/01; en la campaña siguiente (2001/02) se iniciaron ensayos de desinfección del suelo por métodos no químicos. Es del tipo capilla, de 1.000 m² (50 × 20 m) con ventilación cenital y en los laterales de mayor longitud. Está orientado en la dirección Norte-Sur y dispone de un sistema automatizado de riego por goteo (emisores de 3 l·h⁻¹) el cual es utilizado para realizar la fertirrigación. El suelo es franco-arcilloso, de pH 7,8 y, aproximadamente, un 1,5% de materia orgánica en el momento de iniciar los ensayos. Al final de la campaña 1999/00 se detectó la presencia de poblaciones de *Meloidogyne incognita*, sin que se tenga constancia de la presencia de *Phytophthora capsici* o *P. parasitica*. En todo el tiempo que se viene realizando cultivo de pimiento no se han presentado problemas de muerte de plantas por causas abióticas, ni daños producidos por otros patógenos telúricos.

En las campañas (2002/2003 y 2003/2004) en que se han realizado los estudios de la microbiota telúrica en suelos desinfectados por medios no químicos, se realizó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento. La superficie de la parcela elemental es de 60 m² y está constituida por una clara del invernadero (separación entre dos postes consecutivos), que alberga tres filas completas de plantas separadas entre sí 1 m, en las que se plantaban 45 plantas separadas entre sí 0,40 m, dejando un pasillo de 1 m en cada uno de los laterales Este y Oeste.

Invernadero E

Como los anteriores también se encuentra en la finca Torre Blanca del IMIDA (Figura 26). Se construyó en el año 1986, sobre suelo de otro invernadero anterior construido en 1974, y cultivado de diferentes hortalizas (tomate, melón, berenjena, pimiento, pepino, etc.) y flores (frezia, ranúnculo, etc.). Desde 1992 a 1995 se cultivó de pimiento, realizándose un cultivo de tomate en la campaña 1995/96 y otro de frezia en la campaña siguiente. A partir de 1997 albergó ensayos de desinfección del suelo por métodos no químicos (biosolarización sola o asociada a rizobacterias), como alternativas al bromuro de metilo. Es de tipo capilla, de 53 × 18 m, con ventilación lateral en los lados mayores y está orientado en la dirección Este-Oeste. El suelo es franco-arcilloso con un pH de 7,6 y aproximadamente un 2,3% de materia orgánica en el momento de realizar los ensayos de desinfección mediante biosolarización. A partir de la primera campaña de ensayos (1997/98) se detectó la presencia de *Meloidogyne incognita* en las parcelas elementales no desinfectadas con bromuro de metilo, utilizado como contraste en todos los ensayos. A lo largo del tiempo que se vienen realizando ensayos con pimiento no se ha detectado la presencia de *Phytophthora capsici* o *P. parasitica*, o de otros patógenos telúricos, ni se han presentado problemas de muerte de plantas por causas abióticas.



Figuras 26. Invernadero E, donde se llevaron a cabo las reiteradas biosolarizaciones.

Los ensayos llevados a cabo en este invernadero relativos a la microbiota abarcan campañas consecutivas desde el año 2001 hasta el año 2004, con lo que el efecto de la desinfección se midió entre las campañas 2000/2001 y 2001/2002, 2001/2002 y 2002/2003 y, por último, entre la campaña 2002/2003 y la 2003/2004, siendo de esta forma el invernadero donde se siguió el efecto mayor número de veces. En todas las campañas se realizó un diseño en bloques al azar con 3 repeticiones por tratamiento. La superficie de la parcela elemental era de 54 m², albergando tres filas de plantas separadas entre sí 1 m y en las que se plantaban 40 plantas separadas 0,40 m entre sí, dejando un pasillo de 1 m en el lado Norte y otro de 0,80 m en el lado Sur.

B) Invernaderos con cultivos comerciales

Invernadero Q

Propiedad de los hermanos Gregorio y Mariano Ros Martínez, socios de la cooperativa Surinver S.C.L. se encuentra en el paraje Los Pinos del término municipal de San Pedro del Pinatar (Murcia). El invernadero se viene cultivando ininterrumpidamente de pimiento desde el año 1985, con anterioridad se habían realizado cultivos de melón algunos años, aunque desde su construcción en 1978 fue el pimiento el cultivo más repetido. Es de tipo capilla simétrica y un pasillo central de 0,80 m; está construido con apoyos de madera, con ventilación cenital y lateral en los lados mayores. Está orientado en dirección Este-Oeste y tiene una superficie de 1.500 m² y dispone de instalaciones de riego por goteo, a través del cual se realiza la fertirrigación. El suelo es franco-arcilloso, con deficiencias en el drenaje, por lo que en ocasiones se presentaban problemas de asfixia radicular; se tiene constancia de estar contaminado de *Phytophthora* y de *Meloidogyne*. Por ello, hasta el año 1991, se estuvo desinfectando reiteradamente con metam sodio para hacerlo desde entonces y hasta el año 2001 con bromuro de metilo.

Los ensayos en este invernadero se llevaron a cabo en la campaña 2001/02. Se planteó un diseño experimental de bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento. Las parcelas elementales estuvieron constituidas por dos claras de 2,25 m de anchura cada una, albergando cuatro filas de plantas separadas entre sí 1,125 m y una superficie de 54 m²; en cada fila se plantaron 30 plantas separadas entre sí 0,40 m.

Invernadero Q

También es propiedad de los hermanos Ros Martínez. Se encuentra situado a poca distancia del anterior, en el mismo paraje de San Pedro del Pinatar. Fue construido en 1998 en suelo cultivado con anterioridad de diferentes hortalizas. Es de tipo parral o capilla, de 3.500 m², con ventilación cenital y en los laterales de los lados mayores; está orientado en la dirección Norte-Sur y dispone de un sistema automatizado de riego por goteo, que se utiliza para realizar la fertirrigación. El suelo es franco-arcilloso, con menos del 1% de materia orgánica, con buen drenaje. No se ha detectado la presencia ni de *Phytophthora* ni de *Meloidogyne*, tampoco se han presentado problemas de muertes de plantas por causas abióticas. Pese a todo, desde su construcción se ha desinfectado el suelo con bromuro de metilo todos los años.

Los ensayos se han llevado a cabo en la campaña 2002/03. Se planteó un diseño experimental de bloques al azar con tres repeticiones por cada tratamiento de métodos químicos y no químicos de desinfección del suelo. Las parcelas elementales estuvieron compuestas por una clara de 3 m de anchura y una superficie de 100 m², que albergaba tres filas de plantas separadas entre sí 1 m. En cada fila se plantaron 84 plantas separadas entre sí 0,40 m.

Invernadero O

Situado en el término municipal de San Pedro del Pinatar (Murcia), es propiedad de los hermanos Domingo y Ramón Martínez, socios de Surinver Sdad. Coop. Ltda. Es de tipo parral con soportes metálicos, con aperturas de ventilación en los laterales y en la cumbre, orientación Este-Oeste, con doble cubierta de plástico. El suelo es franco arcilloso con menos del 1% de materia orgánica, con buen drenaje. Dispone de un sistema de riego y fertirrigación automatizado.

Tiene una superficie de 3.200 m² de 25 m de anchura. En él, se viene cultivando pimiento de forma ininterrumpida desde hace doce años. La campaña anterior al estudio, la 2002/2003, se desinfectó con bromuro de metilo de la formulación 98:2 a 30 g·m⁻² con plástico VIF. En la campaña 2003/04 se plantó la

variedad Quito (tipo California rojo). El cultivo se realizó bajo criterios de agricultura ecológica, encontrándose en el primer año de conversión.

No se han detectado patógenos de suelo y no se tienen antecedentes. El suelo no presentó incidencia ni de *Phytophthora capsici* ni de *Meloidogyne incognita*.

En la campaña de estudio (2003-2004) se ensayaron diferentes formulados comerciales de *Trichoderma*, aplicados en el semillero o en el terreno definitivo, en suelo no desinfectado. El diseño experimental fue de bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento, incluido el testigo no tratado ni desinfectado.

Invernadero B

Invernadero propiedad de los hermanos Visitación y Antonio Pérez García, socios de Hortamira Sdad. Coop. Ltda., situado en el término municipal de San Javier (Murcia), en el límite con la provincia de Alicante, en el paraje de Los Roca de El Mirador. Es de tipo capilla, con doble cubierta, orientado en la dirección Este-Oeste, de 25 m de anchura y 3600 m² de superficie, con aperturas de ventilación en los laterales y en la cumbre. El suelo es franco-arcilloso, pH 7-8, con más de 1,5% de materia orgánica, ya que se incorpora estiércol a razón de 2-3 kg·m⁻² todos los años. Se viene cultivando de pimiento ininterrumpidamente desde el año 1986 en que se construyó.

El suelo está infestado de *Phytophthora capsici* y *Meloidogyne incognita*, siendo elevadas las densidades de inóculo, a pesar de que se ha desinfectado todos los años precedentes con bromuro de metilo.

La campaña anterior a la del estudio (la 2002/2003), se desinfectó con bromuro de metilo a 30 g·m⁻² con plástico VIF. En la campaña 2003/2004, se cultivó la variedad Orlando (tipo California rojo) bajo criterios de producción integrada: criterios que se aplican desde el año 1999.

Dispone de un sistema automatizado de apertura de ventilación lateral y cenital. A su vez, cuenta con un sistema mecanizado de apertura y cierre de mallas antiinsectos. Asimismo, tiene una instalación de riego por goteo que sirve para realizar la fertilización mineral.

Se realizó un diseño de bloques al azar con 3 repeticiones por tratamiento. Las parcelas elementales de cada tratamiento constaron de tres filas de plantas, donde cada parcela tenía 56 m².

En él se estudió la variación de la población fúngica a lo largo del cultivo de la campaña 2003/2004.

Invernadero P

Es propiedad de José M^a Saez Orts, socios de Surinver Sdad. Coop. Ltda., se encuentra en el término municipal de Pilar de la Horadada (Alicante). Es de tipo parral o capilla simétrica, con apoyos de madera y aperturas de ventilación en los laterales. El suelo es franco arcilloso, algo degradado por la acumulación de sales, con más de 1,5% de materia orgánica. Orientación Norte-Sur, con una superficie de 1.500 m² y una anchura de 16 m útiles, ya que dispone de un pasillo lateral en el lado Este. Se ha cultivado pimiento de forma ininterrumpida durante los últimos 20 años de los 22 que tiene de antigüedad, desinfectándose con bromuro de metilo todos los años desde 1985. En la campaña anterior se desinfectó con bromuro de metilo (98:2, con plástico VIF a 40 g·m⁻²).

El suelo está contaminado de *Phytophthora capsici* y de *Meloidogyne incognita*, como se pudo constatar en las muestras recogidas al final de la campaña precedente (2001-02), pese a haberse desinfectado con bromuro de metilo.

Se ensayaron nuevos desinfectantes químicos en comparación con otros ya conocidos. Se realizó un diseño de bloques al azar con dos repeticiones por tratamiento. Las parcelas elementales estuvieron formadas por 2 claras del invernadero. Cada clara albergaba dos filas de plantas, con una superficie de 44 m², siendo la superficie total del ensayo de 1.320 m². Se evaluó la variación de microbiota fúngica a lo largo del cultivo en los diferentes tratamientos.

**EFEECTO DE LA DESINFECCIÓN
SOBRE LA MICROBIOTA
EDÁFICA O TELÚRICA**

3. EFECTO DE LA DESINFECCIÓN SOBRE LA MICROBIOTA EDÁFICA O TELÚRICA

3.1. INTRODUCCIÓN

En el concepto de gravedad de una enfermedad de origen edáfico, la densidad de inóculo es uno de los factores que más se ha magnificado. De hecho, la evaluación de la eficacia de la desinfección de un suelo agrícola se ha escorado hacia la disminución, si fuese posible, erradicación, del inóculo patógeno. Lo que habitualmente se consigue es una merma del inóculo del parásito y un retraso —más o menos útil— en la expresión de la enfermedad. Pero con las desinfecciones no solo mengua al patógeno, lo hacen también otros componentes de la microbiota telúrica. A partir de aquí se ha comprobado, en menos ocasiones de las deseadas, cómo pueden otros patógenos recolonizar el suelo y enfermar a las plantas. Ante hechos así la especulación para su explicación suele basarse en que con la desinfección ha desaparecido parte de la microbiota antagonista, dejando espacio y alimento para invasores de rápido crecimiento, como especies de *Pythium* (“hongo del azúcar”, como se le ha denominado en esta memoria de tesis), *Rhizoctonia solani*; potente descomponedor de celulosa y otros no patógenos de plantas.

Otra de las opiniones generalizadas en ciertos entornos, es que la desinfección del suelo lo degrada desde el punto de vista de su biología. Ese término de degradación no ha sido mostrado en toda su amplitud. Quizás el caso más llamativo e interesante para evaluar esa degradación ha sido el estudio de suelos y sustratos supresivos en los cuales la propiedad tiene un origen microbiológico. En estos casos, la desinfección provoca una pérdida de la supresividad al desaparecer o disminuir la microbiota que la confiere. En contrapartida, cuando en un suelo desinfectado o estéril se introduce el o los microorganismos que producen la supresividad, raramente se consigue restituirla en condiciones de laboratorio, y esa dificultad es mayor cuando se experimenta a escala real.

Otro exponente de esa degradación microbiológica del suelo lo conforma la denominada “fatiga del suelo”. En este caso el fenómeno se atribuye —aunque con muy poca base experimental, esa es la verdad— a un incremento de la microbiota no patógena de los suelos cuando se practica, y es el caso más general, el monocultivo de una especie vegetal.

Este apartado acoge, como OBJETIVO PRINCIPAL, de alguna manera, esa “degradación” del suelo cuando se desinfecta, ya sea utilizando desinfectantes químicos como combinaciones de solarización o con adición de materia orgánica. Para ello, se ha muestreado el **suelo desnudo** antes y después de las aplicaciones desinfectantes tratando de evaluar el efecto desinfectante.

De los resultados que más adelante se exponen, se desprende que es la planta la que tiene asociados determinados géneros de hongos, que se repiten una y otra vez independientemente de los tratamientos efectuados y que siempre aparecen para unos suelos de similares características, en la línea de lo que afirmaran GARBEVA *et al.* (2004), indicando que en unas ocasiones, es el tipo de suelo y en otras la planta, el factor clave para el establecimiento de una determinada diversidad de microorganismos que interactúan con la planta.

Queda señalar la escasa bibliografía existente respecto al estudio sobre la microbiota fúngica de lo que se presenta antes y después de la desinfección. Afortunadamente, gracias al interés surgido en los últimos años por el control de las enfermedades mediante procedimientos no químicos, se han visto impulsados trabajos como los llevados a cabo por REYES *et al.* (2004a y 2004b). Éstos últimos sí que guardan gran similitud con los descritos en el presente trabajo. En ellos, se analiza la variación de las poblaciones de *Fusarium* spp., *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. antes y después de realizar tratamientos de desinfección como la biofumigación, la solarización y la combinación de ambos en el olivar. También destacan los trabajos emprendidos por DE CAL *et al.* (2004, 2005) al ensayar diferentes desinfectantes químicos en viveros de fresa en Castilla-León.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Planteamiento de los ensayos

Dentro del estudio de las alternativas al bromuro de metilo que ya se había puesto en marcha antes de iniciar el trabajo, enmarcado en el Proyecto de Investigación Nacional titulado: “Alternativas al bromuro de metilo respetuosas con el medio ambiente y viables económicamente”, éste se enfocó de manera que se pudiera obtener la mayor información posible acerca de las diferentes variantes planteadas.

De esta forma, se eligieron diversos invernaderos con diferentes historiales de desinfección, de antigüedad, de colonización o no de patógenos limitantes del cultivo, comerciales o no, para estudiar una posible situación discriminante respecto a la microbiota del suelo.

Así, se evaluó el efecto sobre la microbiota fúngica del suelo desinfectado por medios químicos (1,3 dicloropropeno+cloropicrina (Telone C-35), óxido de propileno, cloropicrina, dimetildisulfito (DMDS), metam sodio, todo ello a diferentes dosis y/o con plásticos impermeables), no químicos (biofumigación sola, biosolarización, biosolarización reiterada, biofumigación reiterada con solarización, biosolarización con o sin restos de plantas) e incluso bajo la eficacia de agentes de biocontrol (*Trichoderma* aplicada en el semillero o en el trasplante).

Para la interpretación de los resultados que a continuación se exponen, resulta conveniente realizar las siguientes puntualizaciones. La repercusión o el efecto de los desinfectantes sobre la microbiota fúngica se analizó bajo dos puntos de vista:

- Por un lado, se evaluó, dentro de las limitaciones ya indicadas, la eficacia de los desinfectantes empleados. De esa forma se podría especular sobre, ¿qué densidad de microbiota fúngica ha quedado después de la desinfección? Para ello, se realizó un análisis de varianza de los tratamientos para **una fecha** dada, en este caso, para antes de la desinfección, datos que a su vez se corresponden con los de la finalización del cultivo anterior siendo la variable independiente el desinfectante empleado y la dependiente, la densidad de hongos presente. Así, se comparó la densidad de inóculo en las parcelas elementales para cada desinfectante, en base a que tuvieran antecedentes que no fueran comunes. De análoga forma, se realizó el análisis de la varianza después de llevar a cabo los tratamientos de desinfección comparando entre tratamientos después de la desinfección. Se vería así cuál de ellos arrojaría una menor densidad de colonias.
- Por otro lado, se pretendió conocer la repercusión del empleo de cada uno de los desinfectantes (ahora ya de manera individual) sobre la densidad fúngica medida antes de efectuar la desinfección con el producto y después. Se tendría conocimiento así de la eficacia de cada uno de los desinfectantes en particular. Para ello, se realizó un análisis de la varianza para **cada tratamiento**, comparándose la densidad fúngica de antes con la de después de la desinfección.

Otra puntualización, necesaria también para entender los resultados, es que en las parcelas que fueron objeto de desinfecciones con enmiendas orgánicas, ya fueran o no posteriormente solarizadas, el proceso de desinfección se realizó mucho antes que con los desinfectantes químicos. Es decir, además de ser necesario realizarlo en verano para aprovechar las altas temperaturas y la radiación solar, se trata de desinfecciones basadas en procesos biológicos, con lo cual el tiempo necesario para que se multipliquen los microorganismos responsables del

proceso y tengan lugar las fermentaciones es mayor que cuando se trata de productos químicos, transcurriendo generalmente unos dos meses. En el caso de las desinfecciones con químicos, éstas se llevaban a cabo, cuando ya se habían biofumigado o biosolarizado las otras parcelas, y en cuestión de una semana-diez días, terminaba este otro tipo de proceso.

De esta forma, el suelo desinfectado permanecía aproximadamente un mes desnudo a la espera del trasplante, como suele ser habitual en la zona después de la desinfección, aunque previamente, se aireara el suelo y se hicieran las labores preparatorias para recibir las plantas. Conviene recalcar lo de la aireación para cualquier tratamiento realizado, especialmente para el caso de las desinfecciones químicas, con objeto de evitar, entre otros motivos, fototoxicidades. Justo en ese momento de permanecer desnudo, antes de ser labrado, era cuando se hacían los muestreos que en el texto se reflejan como los de después de la desinfección.

Se ha pretendido así que se entienda lo que significa que en un mismo invernadero el muestreo de antes de la desinfección venga a realizarse en julio-agosto (para los tratamientos de biofumigación y biosolarización) y el de después de la desinfección, se efectúe a veces, hasta seis meses más tarde.

3.2.2. Localización y características de los invernaderos

Los invernaderos cuyos suelos fueron objeto de estudio para conocer el efecto de los tratamientos de desinfección sobre la microbiota fúngica, se localizaron en el Campo de Cartagena, en las zonas ya detalladas en el apartado 2.2.

3.2.3. Tratamientos evaluados

3.2.3.1. Desinfectantes químicos

INVERNADERO H

El efecto que tuvieron los desinfectantes sobre la microbiota fúngica del suelo fue medido entre el final de la campaña 2002/2003 y el inicio de la 2003/2004, es decir, en el **año 2003**. Concretamente, se comparó la población existente entre el muestreo del 28/07/2003 (antes de realizar la desinfección) y el del 13 de enero del año siguiente (poco después de realizar la desinfección), **una semana** antes de que se estableciera el cultivo.

Los tratamientos que se evaluaron se reflejan en la Tabla H.1.a.

Tabla H.1.a. Tratamientos realizados en el invernadero H para evaluar su efecto sobre la microbiota fúngica, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, plástico empleado para cubrir el suelo y formulado comercial de los mismos

Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis	Film*	Formulado Comercial
Telone C-35	1,3-Dicloropropeno:cloropicrina (50:50)	50 g·m ⁻²	PE	Telopic de Dow Agrosciences
Óx. propileno	Óxido de propileno 600 l·ha ⁻¹	60 cm ³ ·m ⁻²	PE	Propozone de Aberco
BM 98:2	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom

* PE = Polietileno; VIF = Film virtualmente impermeable.

Los suelos de las parcelas que se desinfectaron con 1,3 dicloropropeno+cloropicrina fueron los que el año anterior también habían sido desinfectados con el mismo producto, los que se desinfectaron con óxido de propileno ya se desinfectaron el año anterior con óxido de propileno y lo mismo sucedió con los que fueron bromurados. Como se puede comprobar, en este caso no hubo testigo sin tratar, sino que fue el bromuro de metilo el tratamiento considerado como referente, puesto que era el fumigante a sustituir.

El bromuro de metilo se aplicó en fumigación en frío el 05/11/2003, utilizando para ello un dosificador volumétrico (Nolia McLean Co, Belmony LA 50) de 3 libras (1lb = 435,75 g) de capacidad y 0,1 lb de precisión. El suelo preparado como se describe a continuación, se cubrió con el plástico el 10/11/2003 y al día siguiente se aplicó el producto, retirándose el plástico una semana después. En este caso, el bromuro actuó como tratamiento de referencia, por carecer de parcelas testigo.

Tanto el 1,3 dicloropropeno +cloropicrina como el óxido de propileno se aplicaron en el agua el día 03/11/2003 al ser el primero una solución emulsionable (densidad 1,3) y ser soluble en agua el segundo (densidad 1) mediante un Venturi instalado en la manguera principal de riego del invernadero. Cada tratamiento se aplicó de forma independiente, oscilando la presión en el Venturi entre 0,9 y 1,0 kg·cm⁻² y la del cabezal de riego entre 1,8 y 2 kg·m⁻². La cantidad de producto a aplicar se midió con una balanza digital de gancho de 150 kg de capacidad y 0,01 kg de precisión. El tiempo de incorporación de los productos osciló entre 50 y 60 minutos.

En todos los casos, el suelo se preparó para la desinfección de la misma forma: al finalizar el cultivo anterior se retiraron los restos de las plantas, se dieron dos pases cruzados de subsolador y cuatro días después un pase de fresadora, permaneciendo abierto el invernadero hasta el momento de la aplicación de los productos. Llegado el momento se extendieron las mangueras de riego (Figura 27) (separación entre mangueras de 1 m, entre emisores dentro de la misma manguera 0,40 m, caudal de los emisores 3 l·h⁻¹), se comprobó el funcio-

namiento de los emisores y se cubrió cada parcela con plástico (Figura 28), enterrándolo en los bordes en un surco de 15 cm. Dos días seguidos antes de la aplicación de los productos en el agua, se dieron sendos riegos de 30 l·m⁻². Antes de la incorporación del producto se ajustó el Venturi y se regó durante 15 minutos. Se incorporó el producto durante el tiempo antes indicado, regando durante otros 15 minutos más para lavar las tuberías y sellar la aplicación. A continuación se cerró el invernadero y se mantuvo el plástico de sellado durante 5 semanas para el caso de las parcelas desinfectadas con 1,3 dicloropropeno + cloropicrina y con óxido de propileno.



Figuras 27 y 28. Preparación del terreno y extensión de ramales de riego (izquierda) y comprobación de su funcionamiento (derecha).

3.2.3.2. *Desinfectantes no químicos*

INVERNADERO CH

Se evaluó el efecto de la desinfección del suelo por medios no químicos, entre el final de la campaña 2002/2003 y el inicio de la 2003/2004, es decir, en el **año 2003**, comparando la población existente entre el muestreo del 28/07/2003 y el 1 de diciembre del mismo año, en este caso, **dos semanas** antes de establecer el cultivo, en este invernadero experimental.

El suelo del invernadero había sido desinfectado el año anterior por métodos no químicos, repitiéndose algunos tratamientos en las mismas parcelas elementales, al tiempo que se redujo la cantidad de enmienda orgánica utilizada para la biofumigación.

Los tratamientos que fueron analizados antes y después de la aplicación para medir su efecto sobre las poblaciones fúngicas quedan detallados en la Tabla CH.1.a. Como se aprecia, se comparó el efecto de la biofumigación reiterada añadiendo res-

tos de plantas con la biofumigación reiterada y posterior solarización con y sin restos de plantas teniendo además parcelas sin desinfectar y otras bromuradas.

Tabla CH.1.a. Tratamientos realizados en el invernadero CH para evaluar su efecto sobre la microbiota fúngica, enmiendas y dosis aplicadas, plástico empleado para cubrir el suelo y formulado comercial de los mismos

Tratamiento ^{A, B}	Producto o enmienda	Dosis	Film ^C	Formulado Comercial
Testigo				
BM 98:2	Bromuro de metilo:cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B 2º año +S	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² :2 kg·m ⁻²	PE	
B 2º año + S + plantas	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² :2 kg·m ⁻²	PE	
B 2º año + plantas	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² :2 kg·m ⁻²	–	

^A B = Biofumigación, ^B S = Solarización, ^C VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

El bromuro de metilo se aplicó el 05/11/2003 y todos los tratamientos de biofumigación en las diferentes versiones ensayadas comenzaron el 18/08/2003, para retirar el plástico de sellado seis días después en el caso del bromuro de metilo y más de dos meses después, el 28/10/2003 en los demás casos.

El bromuro de metilo que sirvió de contraste para evaluar los efectos se aplicó de la forma ya indicada para el invernadero H, incluida la forma de preparación del suelo para la desinfección.

La biofumigación consistió en lo siguiente: se preparó el suelo para la desinfección de la misma forma que se indicó para el invernadero H y que es habitual hacerlo para cualquier forma de desinfección. A continuación se depositó (Figura 29) y se extendió la enmienda orgánica (Figura 30) (en esta ocasión compuesta por una mezcla de estiércol fresco de oveja y de gallinaza) y se enterró mediante una labor profunda de fresadora, dejando el suelo bien desmenuzado y nivelado en superficie. Cuando se incorporaron al suelo los restos del cultivo de pimiento precedente, se trituraron mediante un pase de fresadora antes de distribuir la enmienda orgánica. Luego se extendieron las mangueras de riego (goteadores de 3 l·h⁻¹, dispuestos a 0,40 m en la línea) separadas 0,50 m entre sí, se comprobó el funcionamiento de todos los emisores y se regó durante 3 horas seguidas. Al día siguiente se regó durante otras 3 horas seguidas y a los 7 días se volvió a regar durante una hora. Las hierbas que emergieron y crecieron en las parcelas biofumigadas se eliminaron mediante un tratamiento con Gramoxone (paraquat) a las tres semanas de iniciada la desinfección.

El proceso de desinfección mediante biosolarización tiene una parte común con la aplicación de bromuro de metilo antes descrita, ya que, antes de regar se

cubre el suelo con plástico y se entierra en los bordes tal como se hace para la desinfección química con productos peligrosos. En el caso de utilizar los restos del cultivo precedente como biofumigante se procedió de forma similar a como se ha descrito para la biofumigación. La forma de humedecer el suelo después de cubrirlo con el plástico fue la misma que en el caso de la biofumigación, si bien no se regó a los siete días de haber efectuado el segundo riego. El plástico de sellado permaneció hasta finales de octubre de 2003, como ya se ha referido.



Figuras 29 y 30. Detalle de la aplicación (izquierda) y distribución (derecha) de estiércol a las parcelas de los correspondientes tratamientos.

INVERNADERO E

En este invernadero, se estudió el efecto de la desinfección por medios no químicos sobre la población fúngica del suelo durante tres años consecutivos, aprovechando un ensayo donde se medía la eficacia desinfectante de la biosolarización, aplicada de forma reiterada en el mismo suelo, al tiempo que se reducía la cantidad de enmienda orgánica (una mezcla de estiércol fresco de oveja y gallinaza) utilizada en el proceso. La reducción era la siguiente:

- 1^{er} año: 7 kg·m⁻² de estiércol fresco de oveja + 3 kg·m⁻² de gallinaza.
- 2^o año: 5 kg·m⁻² de estiércol fresco de oveja + 2,5 kg·m⁻² de gallinaza.
- 3^{er} año: 4 kg·m⁻² de estiércol fresco de oveja + 2 kg·m⁻² de gallinaza.
- 4^o año: 3 kg·m⁻² de estiércol fresco de oveja + 1,5 kg·m⁻² de gallinaza.
- 5^o año: 2 kg·m⁻² de estiércol fresco de oveja + 0,5 kg·m⁻² de gallinaza.
- 6^o año: 2 kg·m⁻² de estiércol fresco de oveja + 0,5 kg·m⁻² de gallinaza.

Los ensayos de reducción de la enmienda orgánica conforme se reiteraba el proceso, comenzaron en la campaña 1998-99, encontrándose al final de la campaña 2000-01 en el tercer año de ejecución, es decir, que al comenzar aquí los ensayos, habrían parcelas elementales en las que se había reiterado la

biosolarización durante 3 años consecutivos, otras con 2 años de reiteración y otras con un año.

Para medir por primera vez en este invernadero el efecto de la desinfección sobre la microbiota del mismo, se realizó un muestreo en el **año 2001**, concretamente el 05/08/2001, justo antes de emprender la desinfección, para comparar más adelante con el realizado después de la desinfección, exactamente, el 03/12/2001, **un mes antes** de establecer el cultivo, que se efectuó el 9/1/2002 con la variedad Ribera.

Las biosolarizaciones comenzaron el 28/08/2001, retirándose los plásticos dos meses después, el 29/10/2001, mientras que el bromuro se aplicó el 8/11/2001, levantándose los plásticos una semana después (Figura 30).

En la Tabla E.1.a. se indican los tratamientos realizados, cuyo efecto fue evaluado mediante análisis microbiológico del suelo. A las parcelas que actuaron de control se les aplicó una enmienda de crisantemo al suelo.

Tabla E.1.a. Tratamientos realizados en el año 2001 en el invernadero E para evaluar su efecto sobre la microbiota fúngica, enmiendas y dosis aplicadas, plástico empleado para cubrir el suelo, así como el formulado comercial de los mismos

Tratamiento ^A	Producto o enmienda	Dosis	Film ^B	Formulado Comercial
Testigo + crisantemo	Crisantemo	20 kg/parcela		
BM 98:2	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B + S 2º año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² :2,5 kg·m ⁻²	PE	
B + S 3º año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	4 kg·m ⁻² :2 kg·m ⁻²	PE	
B + S 4º año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	3 kg·m ⁻² :1,5 kg·m ⁻²	PE	

^A B + S = Biosolarización, ^B VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

De nuevo, el efecto se midió al año siguiente, en el **año 2002**, siendo las muestras de suelo de antes de la desinfección las correspondientes al muestreo realizado el 12/08/2002 y las de después, las del día 05/12/2002, **dos semanas** antes de trasplantar.

Las biosolarizaciones se realizaron el 14/08/2002, permaneciendo el suelo cubierto de plástico hasta casi tres meses después, hasta el 04/11/2002, mientras que el bromuro de metilo se aplicó el día 12/11/02, retirándose la cubierta plástica cuatro días después.

En la Tabla E.2.a. se detallan los tratamientos realizados, comparando la reiteración de las biosolarizaciones con el bromuro de metilo, considerado en este caso como el referente.

Tabla E.2.a. Tratamientos realizados en el año 2002 en el invernadero E para evaluar su efecto sobre la microbiota fúngica, enmiendas y dosis aplicadas, plástico empleado para cubrir el suelo, así como el formulado comercial de los mismos

Tratamiento ^A	Producto o enmienda	Dosis	Film ^B	Formulado Comercial
BM 98:2	Bromuro de metilo:cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B + S 1 ^{er} año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	7 kg·m ⁻² :2,5 kg·m ⁻²	PE	
B + S 3 ^{er} año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	4 kg·m ⁻² :2 kg·m ⁻²	PE	
B + S 4 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	3 kg·m ⁻² :1,5 kg·m ⁻²	PE	
B + S 5 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	2 kg·m ⁻² :0,5 kg·m ⁻²	PE	

^A B + S = Biosolarización, ^B VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

Los muestreos correspondientes al **año 2003**, se realizaron con los mismos criterios que en las anteriores campañas. Las muestras de suelo se recogieron el 12/08/2003, justo antes de realizar las biosolarizaciones y el 22/12/2003, después de desinfectado el suelo y **dos semanas** antes de trasplantar.

Las biosolarizaciones se realizaron el 12/08/2003, permaneciendo el suelo cubierto de plástico hasta casi tres meses después, hasta el 03/11/2003, mientras que el bromuro de metilo se aplicó el día 05/11/03, retirándose la cubierta plástica dos semanas después.

Tabla E.3.a. Tratamientos realizados en el año 2003 en el invernadero E para evaluar su efecto sobre la microbiota fúngica, enmiendas y dosis aplicadas, plástico empleado para cubrir el suelo, así como el formulado comercial de los mismos

Tratamiento ^A	Producto o enmienda	Dosis	Film ^B	Formulado Comercial
BM 98:2	Bromuro de metilo:cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B + S 2 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² :2 kg·m ⁻²	PE	
B + S 4 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	3 kg·m ⁻² :1,5 kg·m ⁻²	PE	
B + S 5 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	2 kg·m ⁻² :0,5 kg·m ⁻²	PE	
B + S 6 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	2 kg·m ⁻² :0,5 kg·m ⁻²	PE	

^A B + S = Biosolarización, ^B VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

INVERNADERO Q

En este invernadero comercial se evaluaron los efectos en el año 2002 de un desinfectante químico con agentes de biocontrol (formulados comerciales), teniendo como contraste suelo desinfectado con bromuro de metilo. Se analizaron las muestras de suelo antes de realizar la desinfección, el día 11/07/2002 y después, el 13/01/2003, escasos **días antes** de trasplantar.

El suelo del invernadero había sido objeto de evaluación de alternativas al bromuro de metilo el año anterior con parcelas en las que se combinó el efecto de la solarización y el metam sodio y se aplicaron agentes de biocontrol sobre suelo solarizado, tomando como referencia el suelo bromurado.

Para la aplicación del metam sodio a través del sistema de riego, tras labrar el suelo, se extendieron los ramales de riego, se colocó el plástico sellándolo en los bordes (Figuras 31 y 32) y se humedeció el suelo, durante tres o cuatro horas los dos-tres días anteriores a la aplicación. El producto se incorporó mediante un Venturi instalado a la entrada de la tubería de agua al invernadero. Tras la incorporación del producto, se regó durante 30 minutos para favorecer la penetración del producto y el lavado de las tuberías.



Figuras 31 y 32. Detalle de la forma de sellar los bordes del plástico para una correcta cobertura del suelo (izquierda) y del aspecto que presenta el invernadero al realizar las biosolarizaciones, en donde las parcelas sin cubrir corresponden a las que eran testigo o iban a ser más adelante bromuradas (derecha).

La aplicación del bromuro de metilo se realizó el 20/09/2002 y la del metam sodio, el 07/10/2002. Los plásticos se retiraron en ambos casos el 17/10/2002, mientras que la aplicación de *Trichoderma* se realizó en el semillero a principios de octubre. Los tratamientos evaluados, así como las dosis de aplicación de cada producto o agente vienen referidas en la Tabla Q.1.a.

Tabla Q.1.a. Tratamientos realizados en el año 2002 en el invernadero Q para evaluar su efecto sobre la microbiota fúngica, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, plástico empleado para cubrir el suelo y formulado comercial de los mismos

Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis	Film ^A	Formulado Comercial ^B
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	40 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
Metam sodio	Metam sodio (N-metildiocarbonato de sodio)	50 g·m ⁻²	PE	Metam Sodio 50 de Taminco
<i>Trichoderma</i> semillero	<i>Trichoderma harzianum</i> 1,5·10 ⁸ conidias/g	0,75 g·l ⁻¹	PE	Trianium G de Koppert

^A PE = Polietileno, VIF = Film virtualmente impermeable, ^B G = Granulado.

3.2.4. El análisis estadístico de los datos

En cuanto a los análisis realizados para conocer el hipotético cambio sufrido en las poblaciones fúngicas, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) factorial para cada uno de los géneros aislados y para el total de los mismos.

Los análisis se plantearon de la siguiente forma:

- Se analizaron los datos correspondientes con el muestreo de antes de realizar la desinfección y con el de después de la desinfección con objeto de comparar el comportamiento de todos los desinfectantes empleados entre sí y ver así la variación de densidad de inóculo estimada entre las parcelas. Para cada momento de muestreo (antes o después), las variables independientes fueron el tratamiento y la repetición, y la dependiente, el género o especie analizada.
- En el caso de analizar el efecto de cada uno de los tratamientos se comparó, para cada uno de ellos de manera individual, antes y después sobre cada población en particular y en total. Para cada tratamiento, las variables independientes fueron el momento de muestreo (antes y después) y la repetición y la variable dependiente, el género o especie analizada.

De la forma así descrita, se conoció lo que sucedía antes y después de realizar las desinfecciones, lo que compone la primera parte de los resultados.

- Además, se comparó el efecto de determinados desinfectantes en distintos invernaderos y en diferentes campañas de cultivo para apreciar más claramente su efecto sobre las poblaciones fúngicas.

Para normalizar los datos de todos los análisis, se empleó la transformación $\sqrt{(x+0,5)}$, como ya hicieran RODRÍGUEZ MOLINA *et al.* (2001), por ser la que mayor información proporcionaba para la interpretación de los resultados.

El método empleado para la comparación de las medias fue el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) al 95%.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el propósito de que se comprenda mejor el alcance de los resultados a los que se ha llegado, se requiere tener en cuenta algunas observaciones de distinta naturaleza.

- En primer lugar, indicar que los invernaderos sobre los que más se ha trabajado a lo largo de estos años han sido los que tenían una naturaleza por así decirlo, experimental y esos van a constituir la base a la que se refieran tanto las discusiones realizadas como las conclusiones a las que se llegue.
- Anotar también que se debe tener presente que estos invernaderos, H, CH y E no tenían patógenos fúngicos limitantes del cultivo (*Phytophthora capsici*), dato fundamental para extrapolar los resultados. Los otros invernaderos, los que tenían cultivos comerciales, servirán para corroborar o contrastar los ensayos anteriores, en cierto modo, porque éstos no han sido tan reiterados.
- Se debe señalar además, que no siempre se contaba con unas parcelas testigo, como ya se habrá apreciado, por el coste económico que suponían en relación a la producción obtenida. Ya se tenía conocimiento de que un primer año sin realizar ningún tratamiento, se traducía en una pérdida del 20% de la producción, el segundo un 40%, y así sucesivamente.
- Por último, destacar que los gráficos no se han podido representar todas a la misma escala ya que a veces se daban densidades muy altas que no permitirían visualizar las diferencias entre otras mucho menores. Por eso se han "cortado" algunas barras y se ha indicado la densidad en U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco en donde se creyó conveniente.

3.3.1. Desinfectantes químicos

Eficacia de los desinfectantes

Se midió el efecto de los tratamientos realizados sobre la población fúngica del suelo. Las poblaciones de hongos de suelo presentes en cada parcela experimental se midieron antes y después de realizar los tratamientos de desinfección. La evaluación de la efectividad de cada uno de los tratamientos se realizó en relación al número de U.F.C. por gramo de suelo seco, tal y como hicieran DE CAL *et al.* (2004, 2005).

En cuanto a los resultados que se expresan a continuación, conviene realizar la siguiente observación: los altos errores típicos asociados a las medias obtenidas de U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco. Ello indica la alta variabilidad de los datos obtenidos como consecuencia del método empleado y su carácter eminentemente cualitativo para tener conocimiento de la presencia o ausencia de determinados géneros de hongos, consideración ya planteada en el apartado 2.1.3.1.1. de material y métodos.

Todo lo cual hace que los resultados deban ser tenidos en cuenta con precaución, a pesar de haber analizado cada muestra en 10 placas de Petri para el análisis de la microbiota total y en 16 para el análisis de la microbiota fusárica para cada repetición del tratamiento.

Los hongos habitualmente encontrados en los suelos de los invernaderos de pimiento han correspondido a los géneros *Aspergillus* spp., *Fusarium*, spp. *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp. y *Trichoderma* spp.. Este último se detectaba casi exclusivamente en aquellos invernaderos en los que se aplicó a las plantas.

Esporádicamente, fueron otros los géneros aislados como *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp., *Mortierella* spp. o *Chaetomium* spp. pero dada su baja frecuencia no se han tenido en cuenta a la hora de expresar los resultados.

En cuanto a lo referente al género *Aspergillus* spp., las especies que se aislaron de forma sistemática fueron *Aspergillus flavus* Link y *Aspergillus niger* van Tiegen.

Con frecuencia, las especies aisladas correspondientes al género *Penicillium* spp. en los análisis de suelo fueron *P. expansum* y *P. italicum*.

Respecto al género *Rhizopus* spp., las especies frecuentemente aisladas fueron *Rhizopus stolonifer* y *Rhizopus nigricans*.

Cuando era aplicado como formulado comercial, la especie habitualmente aislada fue *Trichoderma harzianum*.

INVERNADERO H

a) MICROBIOTA TOTAL

Respecto a la eficacia de los desinfectantes, se aprecia en la Tabla 3.H.1., la comparación entre la densidad de hongos soportada antes de realizar la desinfección y la soportada después de la misma respecto a los mismos desinfectantes empleados en ambas campañas. Asimismo, se ha expresado el porcentaje de cada género (especie en el caso de *F. solani*) respecto del total para determinar la importancia relativa de cada uno de ellos.

En dicha Tabla, se observa que las parcelas que habían sido tratadas con óxido de propileno a la dosis de 600 l·ha⁻¹ fueron las que soportaron mayor densidad de hongos antes de realizar la desinfección. Las que menos, bromuro de metilo y 1,3 dicloropropeno+cloropicrina, que no se diferenciaron entre sí.

La proporción de cada uno de los géneros fue relativamente importante, aunque se encontraba dominada por *Aspergillus* spp.

En cuanto a la evaluación de cada uno de los desinfectantes sobre la microbiota fúngica antes y después de realizar la desinfección, ésta sólo tuvo repercusión en el cómputo total de hongos en el caso de Telone C-35 que sí logró reducir el inóculo presente (Tabla 3.H.2). El resto de tratamientos analizados no mostró diferencias significativas. De nuevo, *Aspergillus* spp. fue el género mayoritariamente aislado.

Tabla 3.H.1. Variaciones de la microbiota fúngica total expresada en 10³ U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada género en el invernadero H para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección*

	Antes						Después					
	BM	%	Telone C-35	%	OP 600	%	BM	%	Telone C-35	%	OP 600	%
<i>Aspergillus</i>	4,85a	53,89	5,86a	69,27	8,53b	62,26	10,53b	82,72	1,83a	73,20	12,66b	85,77
<i>F. solani</i>	0,60a	6,67	1,16a	13,71	2,40b	17,52	0,26a	2,04	0,40a	16,00	1,53b	10,37
<i>Rhizopus</i>	2,20b	24,44	1,43a	16,90	2,03ab	14,82	0,16a	1,26	0,20a	8,00	0,46b	3,12
<i>Penicillium</i>	1,35c	15,00	0,00a	—	0,73b	5,33	1,76b	13,83	0,06a	2,40	0,10a	0,68
Total	9,00a	100	8,46a	100	13,70b	100	12,73b	100	2,50a	100	14,76b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indica diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻². OP 600: Óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹.

Tabla 3.H.2. Efectos de los desinfectantes sobre los hongos mayoritariamente aislados expresado en 10³ U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero H*

	BM		Telone C-35		OP 600	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
<i>Aspergillus</i>	4,85a	10,53b	5,87b	1,83a	8,53a	12,67b
<i>F. solani</i>	0,60ns	0,27ns	1,17b	0,40a	2,40ns	1,53ns
<i>Rhizopus</i>	2,20b	0,17a	1,43b	0,20a	2,03b	0,47a
<i>Penicillium</i>	1,35ns	1,77ns	0,00ns	0,07ns	0,73ns	0,10ns
Total	9,00a	12,73ns	8,47b	2,50a	13,70b	14,77ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo a 30 g·m⁻², OP 600: Óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹.

El tratamiento con bromuro de metilo no presentó diferencias significativas antes y después de la desinfección. A excepción de *Aspergillus* spp. que aumentó en algo más de un 50% y *Rhizopus* spp. que disminuyó su densidad en más de un 90% (Tabla 3.H.3.).

Los resultados, contrastan así con los trabajos de DE CAL *et al.* (2004, 2005) donde afirman que todos los desinfectantes químicos empleados en viveros de fresa lograron reducir las poblaciones de hongos del suelo cuantitativamente.

Con el óxido de propileno no se obtuvieron diferencias significativas tras la desinfección en el cómputo total de hongos aislados, con la particularidad de la reducción de densidad de *Rhizopus* spp. y el ligero aumento (32%) de *Aspergillus* spp.

Tabla 3.H.3. Porcentaje de variación de los hongos después de la desinfección respecto del desinfectante empleado en el invernadero*

	BM 30	Telone C-35	OP 600
<i>Aspergillus</i>	+53,94%	-68,82%	+32,67%
<i>F. solani</i>	-	-65,81%	-
<i>Rhizopus</i>	-92,27%	-86,01%	-76,84
<i>Penicillium</i>	-	-	-
Total	-	-70,48%	-

* Porcentajes expresados con el signo positivo indican un aumento y con el signo negativo una reducción en la densidad de hongos medida. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², OP 600: Óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹.

Las parcelas desinfectadas con Telone C-35 (1,3 dic+pic), lograron reducir entre un 65% y un 90% las densidades de hongos presentes (Tabla 3.H.3.), siendo, con diferencia respecto del bromuro de metilo en donde mejor se controló el inóculo medido.

Puede apreciarse así el efecto de los químicos aplicados, como lo hicieron DE CAL *et al.* (2004, 2005). O, como lo apreciaron TELLO y LACASA (1990) usando una metodología análoga para suelos de invernaderos de la misma zona (Campo de Cartagena) cultivados con clavel y desinfectados con bromuro de metilo más metam sodio y bromuro de metilo solo.

En el caso de añadir estiércol después de la desinfección, la presencia de los componentes de la microbiota se incrementó notablemente pese a los tratamientos. Los resultados difieren, igualmente, en lo concerniente a los géneros encontrados siendo *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* los más abundantes después de *Fusarium*. En la introducción general de esta memoria de tesis se hacía referencia a unos ensayos de desinfección presentados por Martin en 1950 (BURGES, 1960),

donde la cloropicrina muestra su efecto hasta 180 días después del tratamiento y el dicloropropeno-dicloropropano (D-D) hasta 30 días después de la aplicación. En ese sentido podría explicarse como el 1,3 dicloropropeno+cloropicrina ensayado mantiene su eficacia durante un tiempo mayor que el resto de los tratamientos.

Para poder interpretar mejor los resultados, se ha creído conveniente, agruparlos de cara a poder comprobar cual era la densidad de microbiota fúngica al muestrear por primera vez en la campaña y cuál era la final, es decir, tal y como se aprecia en la Tabla 3.3.1., inicio significa primer muestreo de la campaña de cultivo "x" e ídem para el final. Sin embargo, tal y como se indica también, "y" días tras el trasplante, viene referido a eso, a los días desde la plantación en el terreno definitivo, no entre el primer y último muestreo. Como ya se ha señalado con anterioridad, en el apartado 3.2.3., para cada invernadero en particular, el desfase entre lo que en la Tabla 3.3.1. aparece como inicio (primer muestreo) y la plantación varió entre unos días y un mes. De esta forma, y con las aclaraciones pertinentes, ya se podría hacer una nueva interpretación de los resultados y esta sería la del conocimiento de la persistencia del desinfectante empleado en el suelo a lo largo del ciclo de cultivo.

Además de recogerse aquí los resultados de los análisis correspondientes a los invernaderos experimentales, que han sido el grueso del estudio, se exponen también los de los ensayos en invernaderos con cultivos comerciales (en este caso, los denominados P y B), para apoyar así o contradecir en su caso, la robustez de lo obtenido.

El poder fungicida del 1,3-Dic+pic queda patente al inicio del cultivo en todos los invernaderos en los que se ensayó respecto al comportamiento del bromuro de metilo, como lo muestran los resultados que se presentan en la Tabla 3.3.1. Sin embargo, al finalizar la campaña, el efecto de ambos desinfectantes no se diferenció respecto a las poblaciones fúngicas totales aisladas, verificándose así la persistencia de los químicos hasta siete u ocho meses después. El Gráfico 3.3.1. ayuda a visualizar mejor los comentarios realizados.

Al extraer los resultados en los que se ensayó con el óxido de propileno, se observa cómo las parcelas desinfectadas con este producto a $600 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$ permitieron una menor recolonización del suelo por los hongos que el bromuro de metilo al inicio del cultivo (Tabla 3.3.2.). La dosis de $300 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$ no se diferenció de las parcelas bromuradas en cuanto a la contabilización de las colonias presentes y, sin embargo, la dosis mayor estudiada ($800 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$) permitió una mayor multiplicación de las colonias. Las densidades de hongos encontradas al final del cultivo son muy similares entre los tratamientos ensayados, siendo más eficaz si cabe el óxido de propileno a $600 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$ que el bromuro de metilo. Tal y como se observa en el Gráfico 3.3.2., las densidades fueron menores al dar por terminado el cultivo que en el primero de los muestreos realizados.

Tabla 3.3.1. Comparación de la densidad de cada uno de los géneros y del total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las desinfectadas con 1,3- Dic+pic, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

	Invernadero H							
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante				240 días tras el trasplante			
	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35
<i>Aspergillus</i>	81,10b	7,30a	4,85ns	5,86ns	10,53b	1,83a	5,03ns	7,76ns
<i>F. solani</i>	0,60a	1,53b	0,60ns	1,16ns	0,26ns	0,40ns	6,76b	1,56a
<i>Rhizopus</i>	0,15ns	0,30ns	2,20b	1,43a	0,16ns	0,20ns	0,70b	1,06a
<i>Penicillium</i>	1,85a	7,03b	1,35b	0,00a	1,76b	0,06a	0,00ns	0,00ns
Total	83,70b	16,16a	9,00ns	8,46ns	12,73b	2,50a	12,50ns	10,40ns
	Invernadero P				Invernadero B			
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante				210 días tras el trasplante			
	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35
<i>Aspergillus</i>	6,80b	0,15a	4,15ns	5,15ns	5,45b	0,30a	12,56b	2,46a
<i>F. solani</i>	4,05b	0,00a	2,40b	0,15a	1,65b	0,10a	2,06ns	1,70ns
<i>Rhizopus</i>	0,50ns	0,00ns	1,30b	0,00a	1,10ns	0,60ns	1,96ns	1,73ns
<i>Penicillium</i>	7,00b	0,00a	0,00ns	0,35ns	1,20b	0,00a	0,00ns	1,60ns
Total	18,35b	0,15a	7,85ns	5,65ns	9,40b	1,00a	16,60b	7,50a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo.

Gráfico 3.3.1. Comparación de la densidad total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las desinfectadas con 1,3-Dic+pic, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco

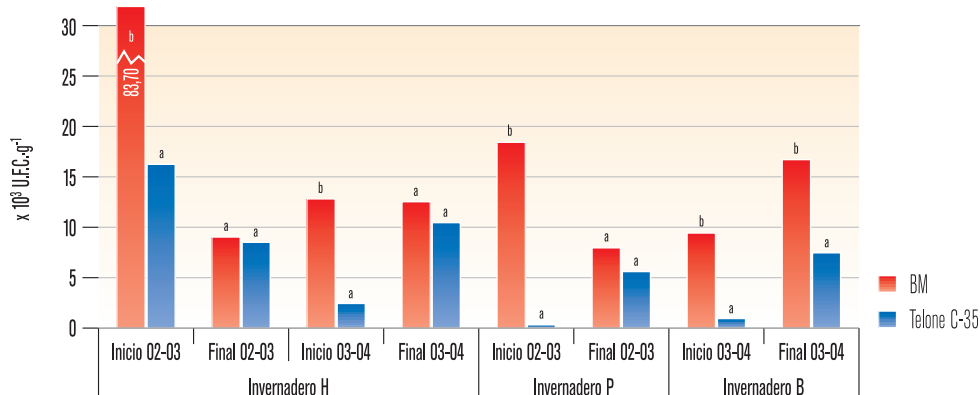
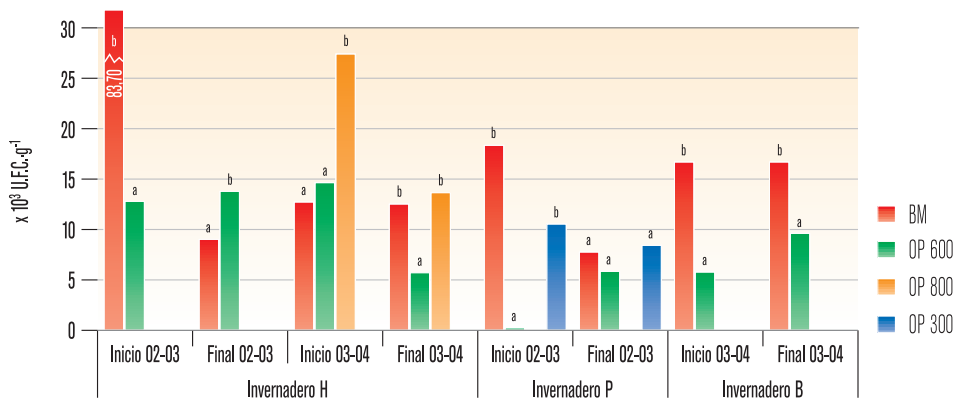


Tabla 3.3.2. Comparación de la densidad de cada uno de los géneros y del total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las desinfectadas con óxido de propileno a distintas dosis, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

	Invernadero H											
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante	
	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 800
<i>Aspergillus</i>	81,10b	5,20a	4,85a	8,53b	10,53ns	12,66ns	5,03	0,56a	10,53a	25,13b	5,03a	9,20b
<i>F. solani</i>	0,60a	5,13b	0,60a	2,40b	0,26a	1,53b	6,76ns	4,56ns	0,26ns	0,53ns	6,76b	1,70a
<i>Rhizopus</i>	0,15a	2,33b	2,20ns	2,03ns	0,16a	0,46b	0,70b	0,00a	0,16a	0,63b	0,70a	2,20b
<i>Penicillium</i>	1,85b	0,13a	1,35b	0,73a	1,76b	0,10a	0,00a	0,70b	1,76ns	1,00ns	0,00a	0,50b
Total	83,70b	12,80a	9,00a	13,70b	12,73ns	14,76ns	12,50b	5,63a	12,73a	27,30b	12,50ns	13,60ns
	Invernadero P											
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante	
	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 300	BM	OP 300	BM	OP 600	BM	OP 600
<i>Aspergillus</i>	6,80b	0,00a	4,15ns	3,80ns	6,80b	2,80a	4,15b	1,45a	12,56b	2,75a	12,56b	2,60a
<i>F. solani</i>	4,05b	0,00a	2,40ns	1,10ns	4,05ns	6,20ns	2,40ns	3,45ns	2,06b	0,25a	2,06ns	3,95ns
<i>Rhizopus</i>	0,50ns	0,05ns	1,30ns	1,05ns	0,50a	1,55b	1,30ns	2,80ns	1,96ns	2,75ns	1,96ns	2,70ns
<i>Penicillium</i>	7,00b	0,00a	0,00ns	0,00ns	7,00b	0,00a	0,00a	0,70b	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,45ns
Total	18,35b	0,05a	7,85ns	5,95ns	18,35ns	10,55ns	7,85ns	8,40ns	16,60b	5,75a	16,60b	9,70a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo, OP: óxido de propileno.

Gráfico 3.3.2. Comparación de la densidad total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las desinfectadas con óxido de propileno a distintas dosis, expresado en 10^3 U.F.C. g^{-1} de suelo seco



b) MICROBIOTA FUSÁRICA

El interés por conocer el papel de los *Fusarium* en los suelos de los invernaderos de pimiento, entre otras razones, viene justificado por lo que ya anunciaron SNYDER y TOUSSOUN (1965) en relación a que las únicas especies capaces de producir clamidiosporas eran *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. roseum* y no por las otras seis especies de su sistema taxonómico. ¿Son éstas entonces las formas de supervivencia que tienen en el suelo estas especies frente a las continuas desinfecciones de suelo? Los mismos autores indican que la longevidad de dichas clamidiosporas depende en gran medida del grosor de la pared de las mismas. Aparte, como ya se ha expresado en esta memoria de tesis, por considerar la técnica analítica —peese a sus imitaciones— como válida para expresar “tendencias” de la densidad de inóculo.

Particularizando al caso de la microbiota fusárica aislada en este invernadero, similares resultados se obtuvieron antes de la desinfección (Tabla 3.H.4.). Las densidades más bajas se dieron en las parcelas que fueron tratadas con 1,3 dic+pic, mientras que le superaron las bromuradas y aún más, las desinfectadas con óxido de propileno. Conviene señalar como entre, la microbiota fusárica, ha sido *F. solani* la única especie aislada. Este hecho contrasta, de nuevo, con los resultados de TELLO y LACASA (1990) para suelos de la misma zona pero en cultivo de clavel bajo invernadero. En los suelos sin tratar, *Fusarium* puede representar casi un 61% de la microbiota fúngica aislada, correspondiendo un 32,08% a *F. oxysporum*, 28,30% a *F. roseum* y solo un 0,53% a *F. solani*; para una profundidad de muestreo entre 0 y 30 cm; sin embargo, entre 30 y 50 cm ese valor estuvo entorno al 64%, para *F. solani*, en detrimento de las otras especies.

Tabla 3.H.4. Variaciones de la microbiota fusárica expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada especie en el invernadero H para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección*

	Antes						Después					
	BM 30	%	Telone C-35	%	OP 600	%	BM 30	%	Telone C-35	%	OP 600	%
<i>F. oxysporum</i>	18,44ab	4,68	8,83a	7,91	32,63b	3,32	32,12b	10,08	0,00a	–	0,00a	–
<i>F. solani</i>	370,74b	94,10	96,41a	86,32	949,06c	96,49	281,02b	88,20	1,80a	100	16,21a	100
<i>F. roseum</i>	5,13ns	1,30	6,45ns	5,77	1,91ns	0,19	5,49ns	1,72	0,00ns	–	0,00ns	–
Total	394,30b	100	111,69a	100	983,61c	100	318,63b	100	1,80a	100	16,21a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final y al inicio de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², OP 600: Óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹.

Tabla 3.H.5. Efecto de la desinfección sobre las especies de *Fusarium* spp. aisladas expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero H*

	BM 30		Telona C-35		OP 600	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
<i>F. oxysporum</i>	18,44ns	32,12ns	8,83b	0,00a	32,63b	0,00a
<i>F. solani</i>	370,74ns	281,02ns	96,41b	1,80a	949,06b	16,2a
<i>F. roseum</i>	5,13ns	5,49ns	6,45b	0,00a	1,91ns	0,00ns
Total	394,30ns	318,63ns	111,69b	1,80a	983,61b	16,21a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², OP 600: Óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹.

Tabla 3.H.6. Porcentaje de variación de inóculo de cada especie de *Fusarium* spp. aislada respecto del desinfectante empleado después de la desinfección en el invernadero H

	BM 30	Telone C-35	OP 600
<i>F. oxysporum</i>	–	-100%	-100%
<i>F. solani</i>	–	-98,13%	-98,29%
<i>F. roseum</i>	–	-100%	–
Total	–	-98,38%	-98,35%

* Porcentajes expresados con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos medida. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², OP 600: Óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹.

La evaluación de la microbiota fusárica sí ha presentado un efecto sobre la permanencia de las especies de *Fusarium* encontradas (téngase en cuenta a este respecto el concepto de especie adoptado para *F. roseum* en los materiales y métodos de esta memoria). El bromuro de metilo ha tenido un efecto prácticamente inapreciable sobre las tres especies, sin embargo, tanto el telone C-35

como el óxido de propileno han tenido un efecto muy marcado sobre las tres especies. Los resultados contrastan con los mostrados por TELLO y LACASA (1990) para suelos con un monocultivo de clavel bajo invernadero en Almería durante muchos años, donde no apareció *F. solani* y la permanencia del desinfectante (metam-sodio a 5000 y 3000 l·ha⁻¹) fue de unos 60 días, alcanzándose niveles de *F. oxysporum* y *F. roseum* superiores a los obtenidos antes de desinfectar, con niveles de enfermedad (fusariosis vascular del clavel) entre el 60 y el 80%. Sin embargo los resultados para suelos cultivados con clavel de Murcia siempre mostraron la presencia de *F. solani*.

Al contraponer los resultados correspondientes a la carga de microbiota fusárica presente tras desinfectar (inicio de la campaña en la Tabla 3.3.3.) con la que permanece al final del cultivo, el efecto fue muy variable (Tabla 3.3.3.), pues en unos invernaderos fue significativamente inferior al bromuro y en otros casos, todo lo contrario. No obstante, como se recoge de los resultados, al final del cultivo la densidad de *Fusarium* soportada por las parcelas desinfectadas con 1,3-dic+pic fue similar a la de las que habían sido bromuradas, incluso mostraron mejor control respecto a la población acumulada de *Fusarium* (Tabla 3.3.3.), ratificando así cómo las parcelas bromuradas alojaron mayor densidad de *Fusarium* al acabar el cultivo.

Tabla 3.3.3. Comparación de la densidad de cada una de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las desinfectadas con 1,3-Dic+pic, expresado en U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco*

	Invernadero H							
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante				240 días tras el trasplante			
	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35
<i>F. oxysporum</i>	31,58ns	64,33ns	18,44ns	8,83ns	32,12b	0,00a	5,89ns	4,57ns
<i>F. solani</i>	136,75a	557,03b	370,74b	96,41a	281,02b	1,80a	790,05ns	997,17ns
<i>F. roseum</i>	0,00ns	0,00ns	5,13ns	6,45ns	5,49ns	0,00ns	4,21ns	5,10ns
Total	168,33a	621,36b	394,30b	111,69a	318,63b	1,80a	800,16ns	1006,48ns
	Invernadero P				Invernadero B			
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante				210 días tras el trasplante			
	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35	BM	Telone C-35
<i>F. Oxysporum</i>	31,33a	2522,58b	33,65b	1,35a	0,00a	23,52b	514,60b	0,00a
<i>F. solani</i>	701,9a	2522,58b	567,92b	34,23a	4708,08b	1188,95a	5972,92ns	8914,09ns
<i>F. roseum</i>	0,00a	109,72b	33,65b	1,35a	0,00ns	0,00ns	67,00a	257,80b
Total	732,53a	5154,44b	635,23b	36,94a	4708,08b	1212,47a	6554,54ns	9171,90ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo.

Tabla 3.3.4. Comparación de la densidad de cada una de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las desinfectadas con óxido de propileno a distintas dosis, expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

	Invernadero H												
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04		Inicio 2003-04		Final 2003-04		
	210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante		240 días tras el trasplante		
	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 800	OP 800
<i>F. Oxysporum</i>	31,58a	72,01b	18,43a	32,63b	0,00ns	0,00ns	5,89a	77,96b	0,00ns	0,00ns	5,89a	12,47b	
<i>F. Solani</i>	136,75a	1581,40b	370,74a	949,06b	2,20a	16,21b	790,05a	3362,98b	2,20b	0,83a	790,05b	221,19a	
<i>F. Roseum</i>	0,00ns	0,00ns	5,12ns	1,91ns	0,00ns	0,00ns	4,21a	48,69b	0,00ns	0,00ns	4,21ns	4,56ns	
Total	169,33a	1653,42b	394,30a	983,60b	2,20a	16,21b	800,16a	3489,64b	2,20b	0,83a	800,16b	238,22a	
	Invernadero P												
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04		
	210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante		
	BM	OP 600	BM	OP 600	BM	OP 300	BM	OP 300	BM	OP 600	BM	OP 600	
<i>F. Oxysporum</i>	31,33a	719,00b	33,65b	3,27a	31,33ns	14,37ns	33,65a	114,39b	0,00ns	0,00ns	514,60b	78,87a	
<i>F. Solani</i>	701,19ns	719,00ns	567,92b	227,57a	701,19a	1205,24b	567,92a	2156,15b	4708,08a	7577,94b	5972,92a	13742,96b	
<i>F. Roseum</i>	0,00a	151,06b	33,65b	3,27a	0,00a	92,19b	33,65a	114,39b	0,00ns	0,00ns	67,00b	0,00a	
Total	732,53a	1599,07b	635,23b	234,12a	732,53a	1311,82b	635,23a	2384,95b	4708,08a	7577,94b	6554,54a	13821,84b	

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0.5)}$. ns: no difieren significativamente. BM: Bromuro de metilo, OP: óxido de propileno.

Al contrastar los resultados de este invernadero experimental con otros con cultivos comerciales (Tabla 3.3.4.), los resultados relativos a la presencia de *Fusarium* demuestran todo lo contrario a lo comentado para la microbiota total (salvo el caso del óxido de propileno a 800 l·ha⁻¹ en la campaña 2003/04). El bromuro de metilo evitó la colonización del suelo por parte de *Fusarium* en mayor medida que el óxido de propileno a las demás dosis ensayadas tanto al inicio como al final de la campaña, siendo su efecto por tanto más persistente en el tiempo que el otro químico ensayado.

Gráfico 3.3.3. Comparación de la densidad total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las desinfectadas con 1,3-Dic+pic, expresado en U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco

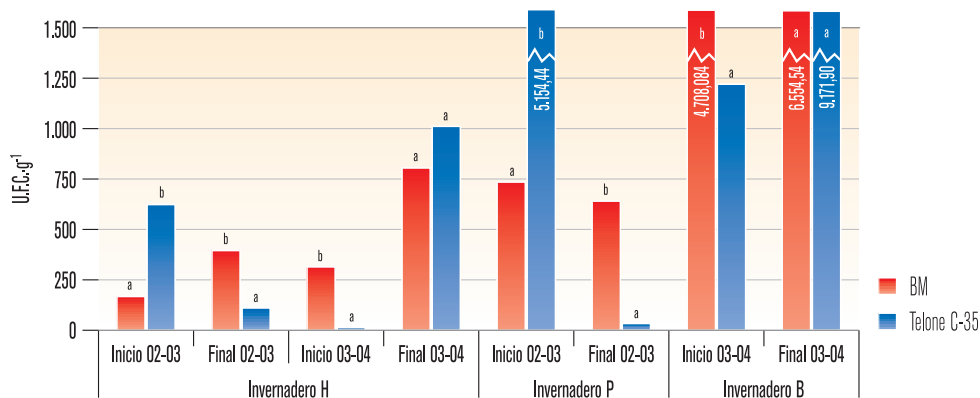
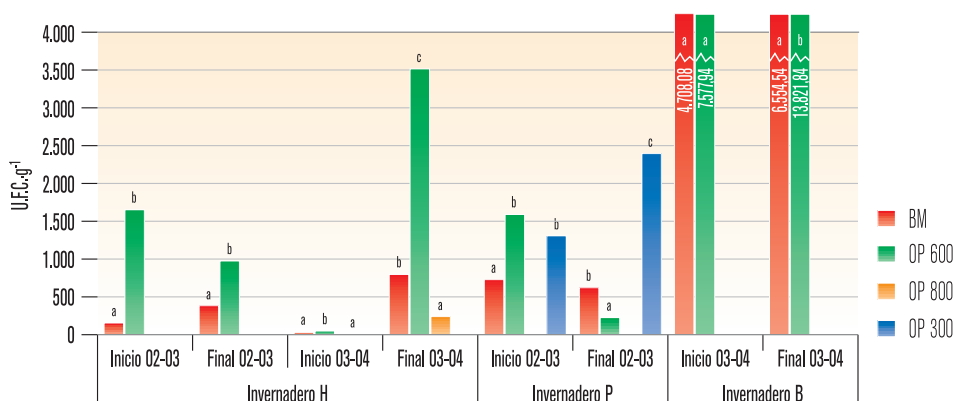


Gráfico 3.3.4. Comparación de la densidad total de *Fusarium* spp. medida al inicio de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las desinfectadas a distintas dosis de óxido de propileno, expresado en U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco



3.3.2. Desinfectantes no químicos

Eficacia de los desinfectantes

INVERNADERO CH

En este invernadero, al igual que en el anterior para desinfecciones químicas, se evalúa el efecto de los tratamientos con materia orgánica sola (biofumigación) o acompañada de solarización (biosolarización).

a) MICROBIOTA TOTAL

Las Tablas 3.CH.1., CH.2. y CH.3. muestran varios resultados merecedores de comentarlos. Es evidente que el testigo se ha mostrado aproximadamente igual antes de las aplicaciones y después sobre suelo desnudo, sin plantas.

En este ensayo, el bromuro de metilo ha mostrado un efecto más llamativo que en el invernadero H (ver apartado anterior). En lo concerniente a la materia orgánica, es evidente que su adición incrementa la población de hongos, como parece contrastado por diversos autores (TELLO y LACASA, 1990; CHIBA y TAKEDA, 2001). Sin embargo, aumenta la densidad pero no el número de géneros y/o especies fúngicas, que son análogas a las aisladas con la desinfección química: *Aspergillus*, *F. solani*, *Rhizopus* y *Penicillium*.

En cuanto al efecto de la aplicación de enmienda orgánica sin cubrir con plástico, los trabajos realizados por CHIBA y TAKEDA (2001) revelan que la microbiota se ve influenciada por las aplicaciones de estiércol de ganado vacuno, resultando la densidad de nitrógeno inorgánico más alta y la actividad respiratoria del suelo más baja. Sin embargo, de los trabajos realizados por GAMLIEL *et al.* (2000), se extrae que cuando el suelo es solamente solarizado, sin enmienda orgánica, los propágulos de hongos patógenos como *Pythium ultimum* y *Sclerotium rolfsii* no se vieron inactivados y sí lo hicieron cuando el suelo fue biosolarizado.

En el presente estudio, las mayores densidades correspondieron al género *Aspergillus* spp. aunque también se contabilizaron colonias de *Rhizopus* spp. y/o *Penicillium* spp. en menor medida (Tabla 3.CH.1.).

No hubo diferencias entre el comportamiento del bromuro de metilo y las diferentes variantes de la biofumigación realizadas, ni al final de la campaña 2002/2003 ni al inicio de la siguiente (Tabla 3.CH.1.).

Todos los tratamientos realizados antes del trasplante lograron reducir la densidad de hongos presente a excepción de las parcelas testigo que no variaron (Tabla 3.CH.2.).

Tabla 3.CH.1. Variaciones de la microbiota fúngica total expresada en 10³ U.F.C.g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada género en el invernadero CH para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección*

	Antes									
	BM 30	%	B+S	%	B+S+pl	%	B	%	Testigo	%
<i>Aspergillus</i>	6,67a	32,42	25,63b	94,22	27,57b	92,4	10,27b	36,50	10,27b	74,79
<i>F. solani</i>	1,77ns	8,60	0,27ns	0,99	0,93ns	3,11	1,73ns	6,15	0,43ns	3,13
<i>Rhizopus</i>	3,50a	17,01	0,17a	0,62	0,50a	1,67	14,60b	51,90	2,93a	21,34
<i>Penicillium</i>	8,63b	41,95	1,13a	4,15	0,83a	2,78	1,53a	5,43	0,10a	0,72
Total	20,57b	100	27,20b	100	29,83b	100	28,13b	100	13,73a	100
	Después									
	BM 30	%	B+S	%	B+S+pl	%	B	%	Testigo	%
<i>Aspergillus</i>	1,27a	39,68	1,20a	62,17	1,40a	50,00	1,90a	54,75	8,63b	76,84
<i>F. solani</i>	0,00ns	–	0,00ns	–	0,40ns	14,28	0,60ns	17,29	0,33ns	2,93
<i>Rhizopus</i>	1,80ns	56,25	0,53ns	27,46	0,77ns	27,50	0,97ns	27,95	1,00ns	8,90
<i>Penicillium</i>	0,13ns	4,06	0,20ns	10,36	0,23ns	8,21	0,00ns	–	1,26ns	11,21
Total	3,20a	100	1,93a	100	2,80a	100	3,47a	100	11,23b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización, B+S+ pl.: Biosolarización con restos de plantas, B: Biofumigación, B 2°: Biofumigación reiterada por segunda vez.

Tabla 3.CH.2. Efecto de los desinfectantes sobre los hongos mayoritariamente aislados expresado en 10³ U.F.C.g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero CH

	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
	Testigo	Testigo	BM 30	BM 30	B+S	B2°+S	B+S+pl	B2°+S+pl	B	B2°
<i>Aspergillus</i>	10,27ns	8,63ns	6,67b	1,27a	25,63b	1,20a	27,57b	1,40a	10,27b	1,90a
<i>F. solani</i>	0,43ns	0,33ns	1,77ns	0,00ns	0,27ns	0,00ns	0,93ns	0,40ns	1,73ns	0,60ns
<i>Rhizopus</i>	2,93ns	1,00ns	3,50ns	1,80ns	0,17ns	0,53ns	0,50ns	0,77ns	14,60b	0,97a
<i>Penicillium</i>	0,10ns	1,26ns	8,63b	0,13a	1,13ns	0,20ns	0,83ns	0,23ns	1,53b	0,00a
Total	13,73ns	11,23ns	20,57b	3,20a	27,20b	1,93a	29,83b	2,80a	28,13b	3,47a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización, B+S+ pl.: Biosolarización con restos de plantas, B: Biofumigación.

Mientras que algunos hongos no mostraron diferencias significativas con la desinfección como en el caso de *F. solani* o de *Rhizopus* spp., otros sí redujeron significativamente su presencia como lo hicieron *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. Éste último sólo se vio afectado en las parcelas bromuradas y biofumigadas por segunda vez (Tabla 3. CH.3).

Tabla 3.CH.3. Porcentaje de variación de los hongos después de la desinfección respecto del desinfectante empleado en el invernadero CH*

	Testigo	BM 30	B+S/B2°+S	B+S+pl/B2°+S+pl	B/B2°
<i>Aspergillus</i>	–	–80,95%	–95,31%	–94,20%	–81,49%
<i>F. solani</i>	–	–	–	–	–
<i>Rhizopus</i>	–	–	–	–	–93,35%
<i>Penicillium</i>	–	–98,49%	–	–	–100%
Total	–	–84,44%	–92,90%	–90,61%	–87,66%

* Porcentajes expresados con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos medida. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B: Biofumigación, B 2°: Biofumigación reiterada por segunda vez, B+S: Biosolarización, B+S+ pl.: Biosolarización con restos de plantas.

Para el resto de géneros analizados, similares resultados obtuvieron REYES *et al.* (2004a) cuando se refieren al efecto sobre los hongos no patógenos de suelo en el olivar señalando que tanto la biosolarización como la solarización redujeron las poblaciones de *Fusarium* spp., *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. respecto al testigo.

b) MICROBIOTA FUSÁRICA

La microbiota fusárica ha tenido un comportamiento diferencial con respecto a la microbiota total. En primer término, el testigo sin tratamiento disminuyó drásticamente la presencia de *Fusarium*, por lo tanto, será difícil aceptar que el tratamiento de referencia (bromuro de metilo) haya tenido un efecto desinfectante diferencial (MARTÍNEZ *et al.*, 2003). Lo mismo podría servir para lo sucedido al tratamiento B+S+pl (biosolarización con restos de plantas). Sin embargo, podría ser tentativo considerar en ese contexto que los tratamientos B+S (biosolarización) y B (biofumigación) hayan incrementado la microbiota fusárica, tal vez por efecto de la materia orgánica como lo muestra el tratamiento de biofumigación sola, siendo *F. solani* la especie marcadamente prevalente (Tabla 3.CH.4.).

Tabla 3.CH.4. Variaciones de la microbiota fusárica expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada especie en el invernadero CH para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección*

	Antes									
	Testigo	%	B+S	%	B+S+pl	%	B	%	BM 30	%
<i>F. oxysporum</i>	16,29b	2,91	1,23a	2,36	3,08a	4,97	99,00c	4,83	21,57b	4,48
<i>F. solani</i>	519,15b	92,91	49,52a	95,06	52,74a	85,21	1864,98c	91,1	433,90b	90,13
<i>F. roseum</i>	23,29b	4,18	1,34a	2,57	6,06a	9,79	83,18c	4,06	25,91b	5,38
Total	558,75b	100	52,10a	100	61,89a	100	2047,17c	100	481,39b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización, B+S+ pl.: Biosolarización con restos de plantas, B: Biofumigación, B 2°: Biofumigación reiterada por segunda vez.

Tabla 3.CH.4. Variaciones de la microbiota fusárica expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada especie en el invernadero CH para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección* (continuación)

	Después									
	Testigo	%	B2°+S	%	B2°+S+pl	%	B2°	%	BM 30	%
<i>F. oxysporum</i>	0,00a	–	98,32ab	93,15	13,45a	79,68	191,38b	6,06	0,84a	3,50
<i>F. solani</i>	25,76b	100	3,12a	2,95	3,43a	20,31	2931,08c	92,83	23,14b	96,49
<i>F. roseum</i>	0,00a	–	4,10ab	3,88	0,00a	–	34,77b	1,10	0,00a	–
Total	25,76a	100	105,54b	100	16,88a	100	3157,24c	100	23,98a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización, B+S+ pl.: Biosolarización con restos de plantas, B: Biofumigación, B 2°: Biofumigación reiterada por segunda vez.

Tabla 3.CH.5. Efecto de la desinfección sobre las especies *Fusarium* spp. aisladas expresado en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero CH

	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
	Testigo	Testigo	BM 30	BM 30	B+S	B2°+S	B+S+pl	B2°+S+pl	B	B2°
<i>F. oxysporum</i>	16,29b	0,00a	21,57b	0,84a	1,23a	98,32b	3,08ns	13,45ns	99,00a	191,38b
<i>F. solani</i>	519,15b	25,76a	433,90b	23,14a	49,52b	3,12a	52,74b	3,43a	1864,98a	2931,08b
<i>F. roseum</i>	23,29b	0,00a	25,91b	0,00a	1,34ns	4,10ns	6,06ns	0,00ns	83,18b	34,77a
Total	558,75b	25,76a	481,39b	23,98a	52,10a	105,54b	61,89b	16,88a	2047,17a	3157,24b

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización, B+S+ pl.: Biosolarización con restos de plantas, B 2°: Biofumigación reiterada por segunda vez.

Tabla 3.CH.6. Porcentaje de variación de inóculo de cada especie de *Fusarium* spp. aislada respecto del desinfectante empleado después de la desinfección en el invernadero CH*

	Testigo	BM 30	B+S/B2°+S	B+S+pl/B2°+S+pl	B/B2°
<i>F. oxysporum</i>	–100%	–96,10%	+98,74%	–	+48,27%
<i>F. solani</i>	–95,03%	–94,66%	–93,69%	–93,49%	+36,37%
<i>F. roseum</i>	–100%	–100%	–	–	–58,19%
Total	–99,77%	–95,01%	+50,63%	–72,72%	+35,15%

* Porcentajes expresados con el signo positivo indican un aumento y con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos medida. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización, B+S+ pl.: Biosolarización con restos de plantas, B: Biofumigación, B 2°: Biofumigación reiterada por segunda vez.

INVERNADERO E

En este invernadero se ensayaron los tratamientos de desinfección con materia orgánica y solarización (biosolarización) durante tres campañas sucesivas, manteniendo las mismas parcelas elementales en todos los experimentos. Se podrá comprobar

que en este caso se eliminó la biofumigación, pero podría considerarse como tal el testigo al cual se le añadió crisantemo (restos de cosecha). El testigo comparativo (tratamiento de referencia), el tratado con bromuro de metilo (98:2), aplicado con plástico transparente. Una singularidad de las Tablas es que las muestras se tomaron antes de la biosolarización, pero el suelo ya había recibido un tratamiento de biosolarización la campaña anterior, con lo cual aparecen los códigos con un año de diferencia.

Año 2001

a) MICROBIOTA TOTAL

Los dos tratamientos considerados “testigos” tienen una cierta eficacia. Tanto la biofumigación con crisantemo como el bromuro de metilo (tratamiento de referencia), disminuyen las densidades de los hongos, al igual que las merman los tratamientos de biosolarización, aunque menos drásticamente que el gas fumigante. No obstante, las biosolarizaciones con mayor número de reiteraciones provocaron un claro cambio en la composición de los géneros fúngicos destacando el mayor aislamiento de *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. en las parcelas donde se biosolarizó más reiteradamente (Tabla 3.E.1.). Al igual que en los ensayos anteriores, permanecen los mismos géneros y especies.

Tabla 3.E.1. Variaciones de la microbiota fúngica total expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y porcentaje de cada género en el invernadero E para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección en el año 2001*

	Antes									
	Testigo	%	BM	%	B+S 1º	%	B+S 2º	%	B+S 3º	%
<i>Aspergillus</i>	3,33a	21,30	6,66b	51,90	7,00b	53,19	12,73c	84,69	15,43d	44,94
<i>F. solani</i>	10,76b	68,84	0,13a	1,01	0,03a	0,22	0,03a	0,19	0,23a	0,66
<i>Rhizopus</i>	1,2a	7,67	2,93b	22,83	4,93c	37,46	1,93a	12,84	1,96ab	5,70
<i>Penicillium</i>	0,33a	2,11	3,10b	24,16	1,20a	9,11	0,33a	2,19	16,7c	48,64
Total	15,63a	100	12,83a	100	13,16a	100	15,03a	100	34,33b	100
	Después									
	T+cris	%	BM	%	B+S 2º	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%
<i>Aspergillus</i>	0,70bc	16,47	0,00a	–	2,90d	96,66	0,33ab	4,58	1,06c	9,99
<i>F. solani</i>	0,40a	9,41	0,00a	–	0,10a	3,33	6,43b	89,30	9,03c	84,94
<i>Rhizopus</i>	3,10b	72,94	0,03a	100	0,00a	–	0,30a	4,16	0,16a	1,50
<i>Penicillium</i>	0,05ab	1,17	0,00a	–	0,00a	–	0,13abc	1,80	0,36c	3,38
Total	4,25c	100	0,03a	100	3,00b	100	7,20d	100	10,63e	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m $^{-2}$, B+S 1º: Biosolarización de 1º año, B+S 2º: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3º: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Respecto al cómputo total de hongos aislados antes de la desinfección, el tratamiento que mayor densidad de hongos soportó fue la biosolarización de tercer año (Tabla 3.E.1.), que se diferenció significativamente del resto. Al inicio de la siguiente campaña, el bromuro de metilo fue el tratamiento que permitió en menor medida detectar poblaciones fúngicas, al contrario que las parcelas biosolarizadas reiteradamente que permitieron una mayor multiplicación de los hongos. Sin embargo, todas las biosolarizaciones realizadas se comportaron del mismo modo que el bromuro de metilo, reduciendo considerablemente la microbiota fúngica total, como ya comentaran MARTÍNEZ *et al.* (2002).

Tabla 3.E.2. Efecto de los desinfectantes sobre los hongos mayoritariamente aislados expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero E en el año 2001

	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
	Testigo	Tes+cris	BM	BM	B+S1 ^o	B+S2 ^o	B+S 2 ^o	B+S 3 ^o	B+S 3 ^o	B+S 4 ^o
<i>Aspergillus</i>	3,33b	0,70a	6,66b	0,00a	7,00b	2,90a	12,73b	0,33a	15,43b	1,06a
<i>F. solani</i>	10,76b	0,40a	0,13ns	0,00ns	0,03ns	0,10ns	0,03a	6,43b	0,23a	9,03b
<i>Rhizopus</i>	1,2a	3,10b	2,93b	0,03a	4,93b	0,00a	1,93b	0,30a	1,96b	0,16a
<i>Penicillium</i>	0,33b	0,05a	3,10b	0,00a	1,20b	0,00a	0,33ns	0,13ns	16,7b	0,36a
Total	15,63b	4,25a	12,83b	0,03a	13,16b	3,00a	15,03b	7,20a	34,33b	10,63a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m $^{-2}$, cris: crisantemo, B+S 1^o: Biosolarización de 1^o año, B+S 2^o: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3^o: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Tabla 3.E.3. Porcentaje de variación de los hongos después de la desinfección respecto del desinfectante empleado en el invernadero E en el año 2001*

	Testigo	BM 30	B+S 1 ^o -2 ^o	B+S 2 ^o -3 ^o	B+S 3 ^o -4 ^o
<i>Aspergillus</i>	-78,97%	-100%	-58,57%	-97,40%	-93,13%
<i>F. solani</i>	-96,28%	-	-	+99,53%	+97,45%
<i>Rhizopus</i>	+61,29%	-98,97%	-100%	-84,45%	-91,83%
<i>Penicillium</i>	-84,84%	-100%	-100%	-	-97,84%
Total	-72,80%	-99,76%	-77,20%	-52,09%	-69,03%

* Porcentajes expresados con el signo positivo indican un aumento y con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos medida. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m $^{-2}$, B+S: Biosolarización.

Los resultados obtenidos permiten realizar la siguiente observación: el hecho de incorporar materia orgánica a los suelos hace que se incremente la actividad microbiana, como así lo refieren GARCÍA *et al.* (2004) al demostrar que las parcelas cultivadas en agricultura ecológica tienen del orden de tres veces más de hongos y de tres a ocho veces más de bacterias que las de agricultura convencional. Dicha ob-

servación se hizo más evidente en los primeros 15 cm de suelo donde se concentra mayoritariamente la microbiota. Lo que resulta diferente es someter esa enmienda orgánica al proceso de fermentación que tiene lugar bajo el plástico, lo que se traduce en una menor viabilidad para muchas de las esporas fúngicas.

b) MICROBIOTA FUSÁRICA

La biofumigación, en este caso con crisantemo, disminuyó levemente las especies de *Fusarium*, siendo netamente preponderante *F. solani*. La eficacia mostrada por el bromuro de metilo resulta comparable a las mostradas por la biosolarización. Como no podía ser de otra forma, la tendencia se mantiene, quedando *F. solani* como la especie más representada.

En el muestreo realizado antes de la desinfección, las menores densidades de población fusárica se detectaron en las parcelas testigo, que sólo se diferenciaron significativamente de la biosolarización de segundo año. Las parcelas biosolarizadas con cualquier año de reiteración no se diferenciaron de las bromuradas. Las biosolarizadas por segundo año consecutivo soportaron las mayores densidades de *Fusarium* con más de 10.000 U.F.C.g⁻¹. (ver total en Tabla 3.E.4). La especie más representativa fue *F. solani*, compartiendo importancia relativa con *F. oxysporum*. La que menor número de veces se contabilizó fue *F. roseum*.

Tabla 3.E.4. Variaciones de la microbiota fusárica total expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada género en el invernadero E para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección en el año 2001*

	Antes									
	Testigo	%	BM	%	B+S 1º	%	B+S 2º	%	B+S 3º	%
<i>F. oxysporum</i>	610,69a	30,27	2231,30b	43,52	2084,25b	34,20	2545,43bc	23,02	3733,79c	55,89
<i>F. solani</i>	1194,60a	59,22	2497,57b	48,71	3767,66b	61,82	7744,59c	70,05	2589,10b	38,75
<i>F. roseum</i>	211,75ab	10,49	397,84ab	7,76	241,89a	3,96	765,67b	6,92	357,55ab	5,35
Total	2017,05a	100	5126,72ab	100	6093,81ab	100	11055,70b	100	6680,45ab	100
	Después									
	T+cris	%	BM	%	B+S 2º	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%
<i>F. oxysporum</i>	105,44b	6,44	0,00a	–	0,00a	–	4,23a	3,49	3,56a	31,98
<i>F. solani</i>	1221,39d	74,69	182,67c	97,35	0,00a	–	116,77b	96,50	7,57a	68,01
<i>F. roseum</i>	308,30b	18,85	4,96a	2,64	0,00a	–	0,00a	–	0,00a	–
Total	1635,13c	100	187,63b	100	0,00a	–	121,00b	100	11,13a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0.5)}$. T: Testigo, cris: crisantemo, BM 30: Bromuro de metilo 30 g.m⁻², B+S 1º: Biosolarización de 1º año, B+S 2º: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3º: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

En la parcela que el año anterior había sido testigo, parece ser que la adición de crisantemo no tuvo ningún efecto sobre las poblaciones totales de *Fusarium* (Tabla 3.E.5.) aunque sí lo tuviera con *F. oxysporum* cuyas poblaciones se redujeron significativamente.

Tabla 3.E.5. Efecto de la desinfección sobre las especies *Fusarium* spp. aisladas expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero E en el año 2001*

	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
	Testigo	T+cris	BM	BM	B+S 1º	B+S 2º	B+S 2º	B+S 3º	B+S 3º	B+S 4º
<i>F. oxysporum</i>	610,69b	105,44a	2231,30b	0,00a	2084,25b	0,00a	2545,43b	4,23a	3733,79b	3,56a
<i>F. solani</i>	1194,60ns	1221,39ns	2497,57b	182,67a	3767,66b	0,00a	7744,59b	116,77a	2589,10b	7,57a
<i>F. roseum</i>	211,75ns	308,30ns	397,84b	4,96a	241,89b	0,00a	765,67b	0,00a	357,55ab	0,00a
Total	2017,05ns	1635,13ns	5126,72b	187,63a	6093,81b	0,00a	11055,70b	121,00a	6680,45b	11,13a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, T: Testigo, cris: crisantemo, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S 1º: Biosolarización de 1º año, B+S 2º: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3º: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Tanto el bromuro de metilo como las biosolarizaciones reiteradas generaron un cambio en la composición de la población de *Fusarium* spp., pues lo que al final de la campaña anterior tenía densidades considerables de *F. oxysporum* y *F. solani*, pasó a ser dominada en su totalidad por *F. solani* tras la desinfección.

El control ejercido por la biosolarización reiterada de segundo año fue espectacular: pasó de ser la que mayores densidades soportó al final de la campaña precedente a reducirlas en un 100% (Tabla 3.E.6.), aunque en general, todas las biosolarizaciones redujeron significativamente la presencia de *Fusarium* spp., con más efectividad si cabe, que el bromuro de metilo. A esta observación también llegan GAMLIEL *et al.* (2000), pues indican que tras la enmienda realizada con brócoli y cubierta con plástico, las condiciones de anaerobiosis se desarrollan rápidamente teniendo gran efectividad por el rápido agotamiento del oxígeno presente y una reducción del potencial redox. Quince semanas después del tratamiento, se redujo considerablemente la supervivencia de *F. oxysporum* f.sp. *asparagi*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae*.

Como era de esperar, las parcelas que actuaron de testigo fueron las que alojaron un mayor número de colonias. En una situación intermedia se comportaron las parcelas bromuradas y las biosolarizadas por tercer año, mientras que los que mejor controlaron a *Fusarium* spp. fueron las biosolarizadas por segundo y por cuarto año consecutivo.

Tabla 3.E.6. Porcentaje de variación de inóculo de cada especie de *Fusarium* spp. aislada respecto del desinfectante empleado tras la desinfección en el invernadero E en el año 2001*

	Testigo	BM	B+S 1 ^o -2 ^o	B+S 2 ^o -3 ^o	B+S 3 ^o -4 ^o
<i>F. oxysporum</i>	-82,73%	-100%	-100%	-99,83%	-99,90%
<i>F. solani</i>	-	-92,68%	-100%	-84,74%	-99,70%
<i>F. roseum</i>	-	-98,75%	-100%	-100%	-100%
Total	-	-96,34%	-100%	-99,90%	-99,83%

* Porcentajes expresados con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos medida. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización

Año 2002

Este segundo año introduce una variante en el testigo en blanco, que tuvo restos de cosecha de crisantemo en 2001. Variante que consistió en añadir gallinaza a los restos de crisantemo, con objeto de biofumigar.

a) MICROBIOTA TOTAL

En el muestreo de agosto de 2002, antes de las aplicaciones desinfectantes, puede apreciarse como la microbiota fúngica es más elevada en los tratamientos con biosolarización (por segundo y cuarto año) que en el de referencia, el bromuro de metilo, y que en el testigo biofumigado con crisantemo (Tabla 3.E.7). En este último caso en contra de lo esperado, sí aceptamos que en los tratamientos con materia orgánica la microbiota fúngica tiende a incrementarse.

Se aprecia, igualmente, como después de la aplicación el efecto desinfectante se mantiene, al reducir las poblaciones fúngicas, si se exceptúa el tratamiento testigo biofumigado. Este hecho parece sugerir, dado que todos los tratamientos (excepto el bromurado) tuvieron gallinaza, que este estiércol de granjas de pollos y gallinas tiene una mayor eficacia con la solarización con plástico. Podría así especularse con el efecto desinfectante debido a los gases retenidos por el plástico de sellado (PE).

Finalmente, es merecedor de un comentario el hecho de que la microbiota fúngica tenga la misma composición que la obtenida en los ensayos de 2001, sugiriendo que las desinfecciones no son capaces de cambiar la situación. Además puede observarse como en la microbiota del suelo es *Aspergillus* el género predominante, por no decir único, en los tratamientos de biosolarización.

En el muestreo realizado antes de aplicar los tratamientos, se aprecia la importancia relativa de *Aspergillus* spp. en relación a los demás tratamientos pues se aisló en proporciones superiores al 95%. Tras la desinfección, la proporción

de *Aspergillus* spp. fue similar en algunos casos a la de *Penicillium* spp. (Tabla 3.E.7.). Esto podría señalar que la reiteración de la biosolarización, cambia la composición de los géneros de hongos tras realizar el tratamiento (pues pasan de ser dominadas prácticamente en su totalidad por *Aspergillus* spp. a cobrar importancia relativa otros como *Penicillium* spp.).

Tabla 3.E.7. Variaciones de la microbiota fúngica total expresada en 10³ U.F.C.g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada género en el invernadero E para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección en el año 2002*

	Antes									
	T+cris	%	BM 30	%	B+S 2º	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%
<i>Aspergillus</i>	22,25a	95,69	19,53a	97,01	146,73c	98,9	98,03b	99,29	127,03c	99,55
<i>F. solani</i>	0,00a	–	0,00a	–	0,43b	0,29	0,40b	0,40	0,06a	0,40
<i>Rhizopus</i>	1,00bc	4,30	0,60ab	2,98	1,06c	0,71	0,30a	0,30	0,50ab	0,05
<i>Penicillium</i>	0,00ns	–	0,00ns	–	0,00ns	–	0,00ns	–	0,00ns	–
Total	23,25ab	100	20,13a	100	148,23d	100	98,73c	100	127,60d	100
	Después									
	B+cris+gall	%	BM 30	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%	B+S 5º	%
<i>Aspergillus</i>	40,00a	97,08	1,70b	47,22	24,83b	96,99	3,70a	25,17	2,07a	40,58
<i>F. solani</i>	0,63a	0,15	0,60a	16,66	0,47a	1,83	2,90b	19,72	0,27a	5,29
<i>Rhizopus</i>	0,50a	0,12	1,00b	27,77	0,17a	0,66	0,03a	0,20	0,03a	0,58
<i>Penicillium</i>	0,07a	0,01	1,30a	36,11	0,13a	0,50	6,07c	47,41	2,73b	53,52
Total	41,20d	100	3,60a	100	25,60cd	100	14,70bc	100	5,10ab	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, B cris+gall: Biofumigación con crisantemo y gallinaza, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S 1º: Biosolarización de 1º año, B+S 2º: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3º: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Similares conclusiones fueron las que reflejaron GUILLEMAT y MONTEGUT (1956) al comparar la microbiota fúngica de parcelas que no habían recibido abono durante muchos años con parcelas abonadas con estiércol. Comprobaron que éste último favorecía la multiplicación de ficomicetos, ascomicetos, la mayoría de hongos imperfectos. Especialmente, destacaba la multiplicación de los *Penicillium* spp. [como sucediera en la desinfección en el año 2002 (Tabla 3.E.8.)].

Tras la desinfección, se aprecia cómo el bromuro de metilo y la biosolarización de 5º año sin diferenciarse significativamente entre sí tuvieron las poblaciones más bajas, lo que corrobora lo señalado por MARTÍNEZ *et al.* (2004) cuando afirman que la biosolarización provoca una reducción de la microbiota del suelo, siendo mayor la reducción cuanto más se reitera (Tabla 3.E.9.).

Tabla 3.E.8. Efecto de los desinfectantes sobre los hongos mayoritariamente aislados expresado en 10³ U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero E en el año 2002

	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
	T+cris+gall	B+cris+gall	BM	BM	B+S2 ^o	B+S3 ^o	B+S 3 ^o	B+S 4 ^o	B+S 4 ^o	B+S 5 ^o
<i>Aspergillus</i>	22,25ns	40,00ns	19,53b	1,70a	146,73b	24,83a	98,03b	3,70a	127,03b	2,07a
<i>F. solani</i>	0,00a	0,63b	0,00ns	0,60ns	0,43ns	0,47ns	0,40a	2,90b	0,06ns	0,27ns
<i>Rhizopus</i>	1,00ns	0,50ns	0,60ns	1,00ns	1,06b	0,17a	0,30b	0,03a	0,50b	0,03a
<i>Penicillium</i>	0,00ns	0,07ns	0,00a	1,30b	0,00ns	0,13ns	0,00a	6,07b	0,00a	2,73b
Total	23,25ns	41,20ns	20,13b	4,60a	148,23b	25,60a	98,73b	12,70a	127,60b	5,10a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$.

ns: no difieren significativamente, B cris+gall: Biofumigación con crisantemo y gallinaza, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S 1^o: Biosolarización de 1^o año, B+S 2^o: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3^o: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Tabla 3.E.9. Porcentaje de variación de los hongos después de la desinfección respecto del desinfectante empleado en el invernadero E en el año 2002*

	B+S 1 ^o	BM 30	B+S 2 ^o -3 ^o	B+S 3 ^o -4 ^o	B+S 4 ^o -5 ^o
<i>Aspergillus</i>	–	–91,29%	–83,07%	–96,22%	–98,37%
<i>F. solani</i>	+100%	–	–	+86,20%	–
<i>Rhizopus</i>	–	–	–83,96%	–90%	–94%
<i>Penicillium</i>	–	+100%	–	+100%	+100%
Total	–	–82,11%	–82,73%	–85,11%	–96,00%

* Porcentajes expresados con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos medida.

BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización.

De esta forma, los resultados coinciden con los trabajos desarrollados por DÍAZ *et al.* (2002) para evaluar el control de patógenos mediante diferentes desinfectantes químicos y no químicos en cultivos de tomate, donde comprobaron que las poblaciones microbianas se vieron reducidas en los tratamientos de solarización, biosolarización y metam-sodio en un 50% respecto a las parcelas testigo.

b) MICROBIOTA FUSÁRICA

Al igual que ocurrió en el año 2001, se parte de una situación donde se reiteran los tratamientos. En ese sentido, las parcelas tratadas con bromuro de metilo y el testigo biofumigado (restos de crisantemo y gallinaza) manifestaron analíticamente importantes densidades de *Fusarium*, donde la especie predominante fue *F. solani*. Sin embargo, en los tratamientos de biosolarización las poblaciones de *Fusarium* son muy bajas y en algunos casos ni se expresan analíticamente.

Atendiendo a dichas mediciones, la permanencia de los tratamientos es clara en bromuro de metilo, bastante importante en el testigo biofumigado y equiparable a la del fumigante químico los tratamientos de biosolarización.

Se puede aventurar, sin gran riesgo de equívoco, que los resultados del año 2002, repiten los del 2001. Por lo que los fenómenos observados son reproducibles en las condiciones del ensayo.

En el muestreo realizado tras la desinfección, el control efectuado por la biosolarización de tercer, cuarto y quinto año no se diferenció significativamente del realizado por el bromuro de metilo (MARTÍNEZ *et al.*, 2002), obteniendo así similares resultados a los de YÉLAMOS *et al.* (2002). Sí se diferenció del de primer año en el que se contabilizó un mayor porcentaje de lo habitual de *F. oxysporum* (Tabla 3.E.10.).

Tabla 3.E.10. Variaciones de la microbiota fusárica expresada en U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada especie en el invernadero E para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección en el año 2002*

	Antes									
	BM	%	Bcris+gall	%	B+S 2º	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%
<i>F. oxysporum</i>	50,92b	3,20	38,41b	2,04	0,00a	–	2,72a	1,14	0,00a	–
<i>F. solani</i>	1536,26d	96,79	1832,92c	97,77	0,00a	–	232,0b	97,58	0,00a	–
<i>F. roseum</i>	0,00ns	–	3,21ns	0,17	9,46ns	100	0,96ns	0,40	0,00ns	–
Total	1587,18d	100	1874,55c	100	9,46a	100	237,75b	100	0,00a	100
	Después									
	BM	%	B+S 1º	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%	B+S 5º	%
<i>F. oxysporum</i>	0,00a	–	52,67b	76,32	0,00a	–	0,00a	–	0,00a	–
<i>F. solani</i>	0,00ns	–	16,34b	23,67	0,00ns	–	0,00a	–	0,00a	–
<i>F. roseum</i>	0,00ns	–	0,00ns	–	0,00ns	–	9,47ns	100	0,00ns	–
Total	0,00a	100	69,01b	100	0,00a	–	9,47a	100	0,00a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, B cris+gall: Biofumigación con crisantemo y gallinaza, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S 1º: Biosolarización de 1º año, B+S 2º: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3º: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Particularizando a cada uno de los tratamientos, se aprecia cómo todos redujeron significativamente las poblaciones de *Fusarium*, pero especialmente, destaca la acción frente a los *Fusaria* del bromuro de metilo y de la biosolarización de primer año sobre el testigo con adición de crisantemo (Tabla 3.E.11.).

Las biosolarizaciones reiteradas controlaron en su totalidad las poblaciones fusáricas presentes, pero ninguna de ellas tuvo un comportamiento tan diferen-

ciado como el bromuro de metilo, ya que las densidades acumuladas la campaña anterior no habían sido tan altas. El cambio también fue especialmente importante en el caso de realizar la biosolarización por primera vez (Tabla 3.E.11.).

Tabla 3.E.11. Efecto de la desinfección sobre las especies de *Fusarium* spp. aisladas expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero E en el año 2002*

	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
	BM	BM	Bcris+gall	B+S 1°	B+S 2°	B+S 3°	B+S 3°	B+S 4°	B+S 4°	B+S 5°
<i>F. Oxysporum</i>	50,92b	0,00a	38,41ns	52,67ns	0,00ns	0,00ns	2,72ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns
<i>F. Solani</i>	1536,26b	0,00a	1832,92b	16,34a	0,00ns	0,00ns	232,06b	0,00a	0,00ns	0,00ns
<i>F. Roseum</i>	0,00ns	0,00ns	3,21ns	0,00ns	9,46b	0,00a	0,96a	9,47b	0,00ns	0,00ns
Total	1587,18b	0,00a	1874,55b	69,01a	9,46b	0,00a	237,75b	9,47a	0,00ns	0,00ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, T: Testigo, cris: crisantemo, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S 1°: Biosolarización de 1° año, B+S 2°: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3°: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Solamente *F. roseum* en el tratamiento de biosolarización de cuarto año logró multiplicar su presencia (Tabla 3.E.12.). Todo lo contrario que lo hiciera tanto esta especie como las habitualmente aisladas con estos procedimientos de desinfección que, o fueron controladas prácticamente en su totalidad o no mostraron diferencias significativas puesto que las densidades de partida eran ya bajas en la mayoría de casos.

Tabla 3.E.12. Porcentaje de variación de inóculo de cada especie de *Fusarium* spp. aislada respecto del desinfectante empleado después de la desinfección en el invernadero E en el año 2002*

	B+S 1°	BM	B+S 2°-3°	B+S 3°-4°	B+S 4°-5°
<i>F. oxysporum</i>	–	–100%	–	–	–
<i>F. solani</i>	–99,10%	–100%	–	–100%	–
<i>F. roseum</i>	–	–	–100%	+89,86%	–
Total	–96,31%	–100%	–100%	–96,01%	–

* Porcentajes expresados con el signo positivo indican un aumento y con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos obtenida. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B cris+ gall: Biofumigación con crisantemo y gallinaza, B+S: Biosolarización.

Año 2003

En el tercer y último experimento, desaparece el testigo biofumigado con crisantemo en 2001 y con crisantemo y gallinaza en el 2002. Queda por tanto, como único tratamiento de referencia el suelo bromurado.

a) **MICROBIOTA TOTAL**

El desarrollo analítico para los tratamientos repite los resultados obtenidos para los años 2001 y 2002. Hay ligeras diferencias, como son las bajas densidades de hongos encontrados, si se compara con las obtenidas en el año 2002. Y esto ocurre tanto para las poblaciones de partida, como para las finales. Este hecho cuestiona los comentarios anteriores donde tanto en biosolarización como en el suelo biofumigado se imputaban a la adición de materia orgánica. En esta ocasión, y esta es otra diferencia, destaca el incremento de las poblaciones totales de hongos. Incremento que es imputable a *Aspergillus* muy especialmente, como sí ocurrió en 2001 y 2002, parece como si los tratamientos estuviesen desplazando no a los géneros y especies, que continúan siendo los mismos, sino que pareciese como si propiciasen la primacía de uno de ellos.

La densidad de hongos acumulada al final del cultivo fue mayor en el caso de las biosolarizaciones que se venían reiterando desde hacía más tiempo. Sin embargo, las más recientes (1^{er} y 3^{er} año) se comportaron como el bromuro de metilo (Tabla 3.E.13.), al contrario de lo que sucediera para la población fusárica, como más adelante se apreciará. Se vuelven a obtener similares resultados a los de la campaña precedente.

Esto podría indicar que los primeros años de realización de la biosolarización, el efecto en el suelo tiene una mayor repercusión sobre el control de la población, para ir luego estabilizándose y colonizar en mayor medida el suelo. Prueba de ello es el seguimiento de lo que ocurrió a lo largo de las tres campañas de cultivo estudiadas y cuya tendencia se extrae siempre al finalizar el cultivo.

Aspergillus spp. y *Rhizopus* spp. fueron los hongos mayoritariamente aislados al dar por finalizado el cultivo.

Al realizar la desinfección, las menores densidades de microbiota fúngica total correspondieron a las parcelas bromuradas y biosolarizadas por sexta vez, diferenciándose significativamente del resto de tratamientos (Tabla 3.E.13.).

En cuanto al efecto de los desinfectantes (Tabla 3.E.14.), se observa que, prácticamente todos los tratamientos no se diferenciaron significativamente antes y después de realizar la desinfección (incluido el bromuro de metilo), en cuanto a la aparición de *F. solani*, *Rhizopus* spp. y *Penicillium* spp., a excepción de la biosolarización de cuarto año. Sin embargo, casi todos hicieron aumentar las densidades de *Aspergillus* spp. (Tablas 3.E.14. y 3.E.15.), lo que influyó sobremanera en el cómputo global.

Tabla 3.E.13. Variaciones de la microbiota fúngica total expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y porcentaje de cada género en el invernadero E para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección en el año 2003*

	Antes									
	BM	%	B+S 1°	%	B+S 3°	%	B+S 4°	%	B+S 5°	%
<i>Aspergillus</i>	0,43a	38,05	0,47a	31,33	0,13a	19,40	15,30c	88,79	3,27b	100
<i>F. Solani</i>	0,00a	–	0,00a	–	0,00a	–	0,60b	3,48	0,00a	–
<i>Rhizopus</i>	0,57ab	50,44	1,00b	66,67	0,53ab	79,19	1,07b	6,21	0,00a	–
<i>Penicillium</i>	0,13ab	11,50	0,03ab	2,00	0,00a	–	0,27b	1,56	0,00a	–
Total	1,13a	100	1,50a	100	0,67a	100	17,23c	100	3,27b	100
	Después									
	BM	%	B+S 2°	%	B+S 4°	%	B+S 5°	%	B+S 6°	%
<i>Aspergillus</i>	1,00a	25,83	43,93b	89,59	64,23b	96,58	25,50b	95,86	5,63a	91,24
<i>F. solani</i>	0,13b	3,35	0,13b	0,26	0,16b	0,24	0,00a	–	0,00a	–
<i>Rhizopus</i>	1,76c	45,47	1,86c	3,79	1,76c	2,64	0,86b	3,23	0,10a	1,62
<i>Penicillium</i>	0,96a	25,83	3,10bc	89,59	0,33c	0,49	0,23b	86,47	0,43a	6,96
Total	3,87a	100	43,93b	100	66,50b	100	26,60b	95,86	6,17a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m $^{-2}$, B+S 1°: Biosolarización de 1° año, B+S 2°: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3°: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Tabla 3.E.14. Efecto de los desinfectantes sobre los hongos mayoritariamente aislados expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero E en el año 2003*

	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
	BM	BM	B+S 1°	B+S 2°	B+S 3°	B+S 4°	B+S 4°	B+S 5°	B+S 5°	B+S 6°
<i>Aspergillus</i>	0,43a	1,00b	0,47a	43,93b	0,13a	64,23b	15,30ns	25,50ns	3,27ns	5,63ns
<i>F. solani</i>	0,00ns	0,13ns	0,00ns	0,13ns	0,00a	0,16b	0,60b	0,00a	0,00ns	0,00ns
<i>Rhizopus</i>	0,57ns	1,76ns	1,00ns	1,86ns	0,53a	1,76b	1,07ns	0,86ns	0,00ns	0,10ns
<i>Penicillium</i>	0,13a	0,96b	0,03ns	3,10ns	0,00a	0,33b	0,27ns	0,23ns	0,00a	0,43b
Total	1,13ns	3,87ns	1,50a	49,03b	0,67a	66,50b	17,23ns	26,60ns	3,27ns	6,17ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$.

ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m $^{-2}$, B+S 1°: Biosolarización de 1° año, B+S 2°: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3°: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

b) MICROBIOTA FUSÁRICA

Respecto a la microbiota fusárica, los resultados se asemejan a las densidades de la microbiota fúngica total. Las poblaciones son considerablemente

Tabla 3.E.15. Porcentaje de variación de los hongos después de la desinfección respecto del desinfectante empleado en el invernadero E en el año 2003*

	BM	B+S 1º-2º	B+S 3º-4º	B+S 4º-5º	B+S 5º-6º
<i>Aspergillus</i>	+57,00%	+98,93%	+99,79%	–	–
<i>F. solani</i>	–	–	+100%	–100%	–
<i>Rhizopus</i>	–	–	+69,88%	–	–
<i>Penicillium</i>	+86,45%	–	+100%	–	+100%
Total	–	+96,94%	+98,99%	–	–

* Porcentajes expresados con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos obtenida.

BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización.

menores que las evaluadas en los años 2001 y 2002. ¿Significará este hecho que los suelos a fuerza de reiterar el mismo tratamiento, se empobrecen progresivamente en lo concerniente a la microbiota fúngica? Es decir, ¿tienden a esterilizarse?

En cuanto a la microbiota fusárica total aislada antes de la desinfección, se observan dos comportamientos marcadamente diferenciados: por un lado, el del bromuro de metilo y el de las biosolarizaciones de tercer y quinto año, y por otro, el de las biosolarizaciones de primer y cuarto año que registraron una mayor densidad de *Fusarium* (Tabla 3.E.16.).

Tabla 3.E.16. Variaciones de la microbiota fusárica expresada en U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada especie en el invernadero E para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección en el año 2003*

	Antes									
	BM 30	%	B+S 1º	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%	B+S 5º	%
<i>F. oxysporum</i>	26,79abc	22,77	12,23ab	1,73	69,86c	34,84	45,94bc	6,22	5,40a	2,27
<i>F. solani</i>	83,19a	70,72	612,85ab	86,85	100,23a	49,99	688,09b	93,16	221,75a	93,56
<i>F. roseum</i>	7,63a	6,48	80,49b	11,40	30,40a	15,16	4,53a	0,61	9,83a	4,14
Total	117,62a	100	705,58b	100	200,49a	100	738,56b	100	236,99a	100
	Después									
	BM 30	%	B+S 2º	%	B+S 4º	%	B+S 5º	%	B+S 6º	%
<i>F. oxysporum</i>	189,09b	97,58	11,33a	55,13	0,00a	–	3,53a	41,38	18,21a	54,93
<i>F. solani</i>	2,83ns	1,46	7,52ns	36,59	1,41ns	100	4,99ns	58,49	9,29ns	27,56
<i>F. roseum</i>	1,84ns	0,94	1,69ns	8,22	0,00ns	–	0,00ns	–	6,19ns	18,36
Total	193,77b	100	20,55a	100	1,41a	–	8,53a	100	33,70ab	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S 1º: Biosolarización de 1º año, B+S 2º: Biosolarización reiterada por segunda vez, B+S 3º: Biosolarización reiterada por tercera vez, etc.

Antes de aplicar los tratamientos, se aisló *F. solani* en mayor proporción que el resto de especies, lo que no tuvo lugar después puesto que, salvo en la biosolarización de cuarto año, esta especie fue aislada en similar frecuencia que *F. oxysporum* (Tabla 3.E.16.). Todos los tratamientos, a excepción del bromuro de metilo, lograron disminuir las densidades de los *Fusarium* medidos (Tabla 3.E.17.).

Tabla 3.E.17. Efecto de la desinfección sobre las especies de *Fusarium* spp. aisladas expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero E en el año 2003*

	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
	BM	BM	B+S 1°	B+S 2°	B+S 3°	B+S 4°	B+S 4°	B+S 5°	B+S 5°	B+S 6°
<i>F. oxysporum</i>	26,80ns	189,09ns	12,23ns	11,33ns	69,86b	0,00a	45,94b	3,53a	5,40ns	18,21ns
<i>F. solani</i>	83,20b	2,83a	612,86b	7,52a	100,23b	1,41a	688,09b	4,99a	221,75b	9,29a
<i>F. roseum</i>	7,46ns	1,84ns	80,50b	1,69a	30,40b	0,00a	4,53b	0,00a	9,83ns	6,19ns
Total	117,63ns	193,77ns	705,59b	20,55a	200,49b	1,41a	738,56b	8,53a	236,99b	33,70a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Tabla 3.E.18. Porcentaje de variación de inóculo de cada especie de *Fusarium* spp. aislada respecto del desinfectante empleado después de la desinfección en el invernadero E en el año 2003*

	BM	B+S 1°-2°	B+S 3°-4°	B+S 4°-5°	B+S 5°-6°
<i>F. oxysporum</i>	–	–	–100%	–92,31%	–
<i>F. solani</i>	–96,59%	–98,77%	–98,59%	–99,27%	–95,81%
<i>F. roseum</i>	–	–97,90%	–100%	–100%	–
Total	–	–97,08%	–99,29%	–98,84%	–85,77%

* Porcentajes expresados con el signo positivo indican un aumento y con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos obtenida. BM 30: Bromuro de metilo 30 g·m⁻², B+S: Biosolarización.

Para evaluar la persistencia del efecto de las desinfecciones realizadas mediante procedimientos no químicos, se ha preferido exponer los resultados de la forma que a continuación se detallan y que tienen como objetivo aclarar si cabe más la interpretación de los datos obtenidos.

En primer lugar, se exponen los resultados referentes a la comparación entre las parcelas **bromuradas y las que no recibieron ningún tratamiento**. De los resultados expresados en la Tabla 3.3.5. y representados en el gráfico de idéntica nomenclatura, se aprecia que las parcelas testigo soportaron días antes de recibir la planta una densidad de hongos acorde con no haber realizado ningún tratamiento en el suelo. Las parcelas bromuradas pusieron de relieve el efecto esterilizante del tratamiento sobre la microbiota fúngica no patógena al diferen-

ciarse significativamente en prácticamente todas las comparaciones realizadas con el testigo al inicio de las campañas de cultivo. Dicho efecto se volvió a repetir al acabar los ciclos de cultivo o terminó por no diferenciarse del testigo (con la excepción del invernadero CH en la campaña 2002/03).

Tabla 3.3.5. Comparación de la densidad de cada uno de los géneros y del total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las que hicieron de control, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

	Invernadero CH									
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04			
	220 días tras el trasplante				220 días tras el trasplante					
	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM		
<i>Aspergillus</i>	1,07ns	1,53ns	10,27ns	6,67ns	8,63b	1,27a	22,13b	2,13a		
<i>F. solani</i>	0,03a	0,23b	0,43a	1,77b	0,33b	0,00a	2,20b	0,47a		
<i>Rhizopus</i>	3,37b	0,33a	2,93ns	3,50ns	1,00a	1,80b	2,23b	1,27a		
<i>Penicillium</i>	0,00ns	0,00ns	0,10a	8,63b	1,27b	0,13a	1,00ns	0,23ns		
Total	4,47b	2,10a	13,73a	20,57b	11,23b	3,20a	27,57b	4,10a		
	Invernadero E									
	Final 2000-01		Inicio 2001-02		Final 2001-02		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante				200 días tras el trasplante					
	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM
<i>Aspergillus</i>	3,33a	6,66b	0,70b	0,00a	28,10ns	19,53ns	27,06b	1,00a	8,90ns	4,10ns
<i>F. solani</i>	10,76b	0,13a	0,40b	0,00a	0,00ns	0,00ns	0,26b	0,13a	0,40ns	0,30ns
<i>Rhizopus</i>	1,20a	2,93b	3,10b	0,03a	1,30ns	0,60ns	0,36a	1,76b	0,90ns	0,46ns
<i>Penicillium</i>	0,33a	3,10b	0,05b	0,00a	0,00ns	0,00ns	0,33ns	0,96ns	0,60a	1,66b
Total	15,63ns	12,83ns	4,25b	0,03a	29,40ns	20,13ns	28,03b	3,87a	10,80ns	6,53ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo.

Las poblaciones de *Fusarium* spp. presentes en el suelo antes de la plantación tuvieron el mismo comportamiento que el de la microbiota total en las parcelas testigo. Las bromuradas soportaron considerablemente una menor densidad. No ocurrió lo mismo al acabar el cultivo, pues las densidades fueron similares en todos los casos entre las parcelas bromuradas y las que actuaron de control e incluso mucho mayores (muestreo al final de la campaña 2000/01 del invernadero E). Con lo cual la eficacia del bromuro de metilo disminuye tras siete meses de su aplicación tiene el mismo efecto frente a las poblaciones fusáricas asemejándose a los suelos que no recibieron ningún tratamiento.

Gráfico 3.3.5. Comparación de la densidad total de hongos al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las que hicieron de control, expresado en 10^3 U.F.C.g⁻¹ de suelo seco

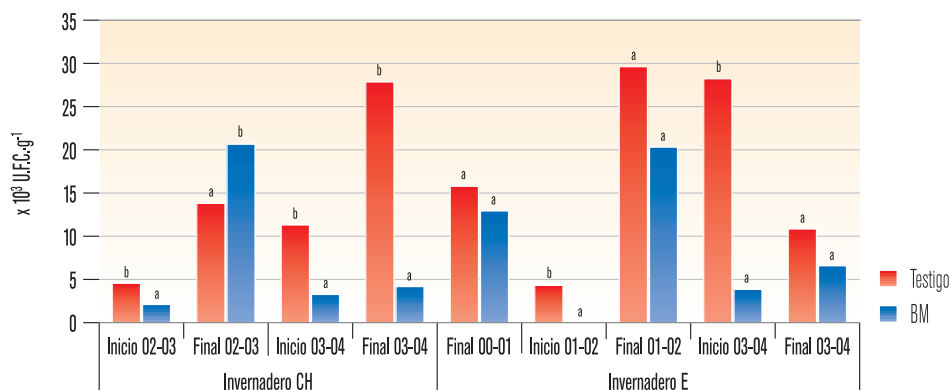


Tabla 3.3.6. Comparación de la densidad de cada una de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las que hicieron de control, expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

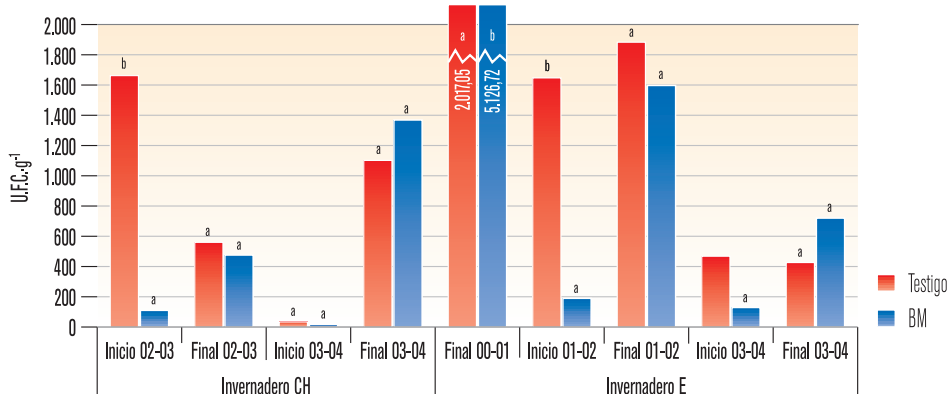
	Invernadero CH									
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04			
	220 días tras el trasplante				220 días tras el trasplante					
	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM		
<i>F. oxysporum</i>	118,85b	4,37a	16,29ns	21,57ns	0,00a	0,84b	93,27b	37,21a		
<i>F. solani</i>	1533,18b	105,99a	519,15ns	433,90ns	25,76ns	23,14ns	978,61ns	1255,02ns		
<i>F. roseum</i>	0,00ns	0,00ns	23,29ns	25,91ns	0,00ns	0,00ns	25,59a	64,09b		
Total	1652,03b	110,37a	558,75ns	481,39ns	25,76ns	23,98ns	1097,48ns	1356,33ns		
	Invernadero E									
	Final 2000-01		Inicio 2001-02		Final 2001-02		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante					200 días tras el trasplante				
	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM	Testigo	BM
<i>F. oxysporum</i>	610,69a	2231,30b	105,44b	0,00a	38,41ns	50,92ns	21,47b	0,00a	26,30a	103,26b
<i>F. solani</i>	1194,60a	2497,57b	1221,39b	182,67a	1832,93ns	1536,26ns	412,37b	129,41a	401,18ns	612,77ns
<i>F. roseum</i>	211,75ns	397,84ns	308,30b	4,96a	3,21b	0,00a	29,18b	2,08a	0,00ns	0,00ns
Total	2017,05a	5126,72b	1635,13b	187,63a	1874,56ns	1587,18ns	463,03b	131,49a	427,49ns	716,04ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo.

Los resultados obtenidos siguieron una pauta generalizada (Tabla 3.3.6.). Lo que aconteció al final de la campaña 2002/2003 en el invernadero CH, se repi-

tió al año siguiente. En el otro invernadero, el E, no hubo diferencias entre unas parcelas y otras al final de dos de las campañas analizadas.

Gráfico 3.3.6. Comparación de la densidad total de *Fusarium* spp. al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las que hicieron de control, expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco



Aun con ligeras diferencias, el comportamiento entre las **parcelas biofumigadas y las que no se les hizo ninguna desinfección**, estuvo muy a la par, incluso en el cómputo global del inicio y del fin. Es como si no hubiese ninguna diferencia en cuanto a la densidad fúngica si se aplica enmienda como si no. Es decir, que al no retenerse ningún gas producto de la fermentación, el resultado es el mismo que si no se hubiese realizado nada, nada al nivel de las poblaciones continuamente medidas.

SACRISTÁN *et al.* (2004) estudiaron el cambio sufrido tras la desinfección sobre las poblaciones de organismos aerobios y anaerobios tras ensayar distintas dosis de biofumigante con restos vegetales del cultivo de fresa y los resultados muestran que las poblaciones de anaerobios aumentaron considerablemente (entorno a $7 \cdot 10^6$ U.F.C.g⁻¹ de suelo) mientras que las de aerobios no sufrieron cambios tras la incorporación de materia orgánica.

En relación a la microbiota fusárica, el patrón de comportamiento de las poblaciones fue el mismo al inicio que al final de esas mismas parcelas: si eran reducidas en un principio, también lo fueron al final y viceversa.

En relación a la comparación entre los suelos de parcelas **biosolarizadas y las que no fueron desinfectadas**, tal y como se muestra en la Tabla 3.3.9., no se aprecia una tendencia muy clara acerca de la influencia de la biosolarización sobre la microbiota fúngica no patógena respecto del testigo al inicio del cultivo.

Tabla 3.3.7. Comparación de la densidad de cada uno de los géneros y del total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas biofumigadas y las que hicieron de control, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

	Invernadero CH							
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	220 días tras el trasplante				220 días tras el trasplante			
	Testigo	B	Testigo	B	Testigo	B	Testigo	B
<i>Aspergillus</i>	1,07ns	0,57ns	10,27ns	10,27ns	8,63b	1,90a	22,13b	6,17a
<i>F. solani</i>	0,03ns	0,00ns	0,43a	1,73b	0,33ns	0,60ns	2,20ns	1,67ns
<i>Rhizopus</i>	3,37a	23,67b	2,93a	14,60b	1,00ns	0,97ns	2,23ns	0,93ns
<i>Penicillium</i>	0,00ns	0,00ns	0,10a	1,53b	1,26b	0,00a	1,00b	0,23a
Total	4,47a	24,23b	13,73a	28,13b	11,23b	3,47a	27,57b	9,00a
	Invernadero E							
	Inicio 2001-02		Final 2001-02					
	210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante					
	Testigo	B	Testigo	B				
<i>Aspergillus</i>	0,70b	0,00a	28,10ns	22,25ns				
<i>F. solani</i>	0,40ns	0,30ns	0,00ns	0,00ns				
<i>Rhizopus</i>	3,10b	0,00a	1,30ns	1,00ns				
<i>Penicillium</i>	0,05ns	0,20ns	0,00ns	0,00ns				
Total	4,25b	0,50a	29,40ns	23,25ns				

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, B: Biofumigación.

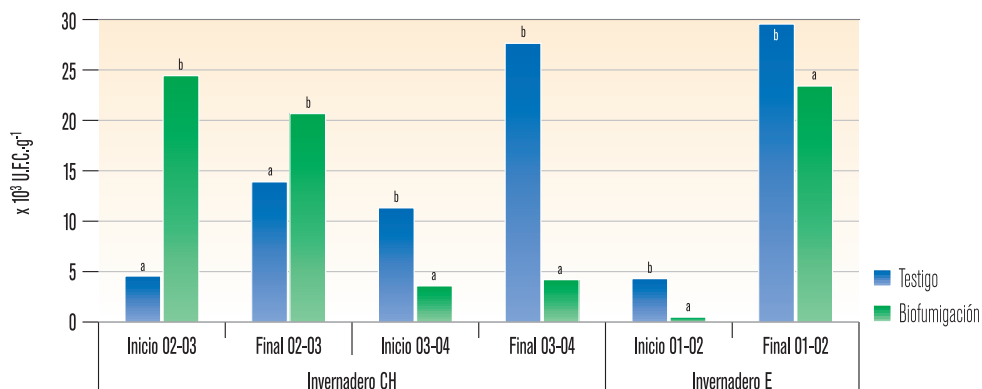
Gráfico 3.3.7. Comparación de la densidad total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas biofumigadas y las que hicieron de control, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco

Tabla 3.3.8. Comparación de la densidad de cada una de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas biofumigadas y las que hicieron de control, expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

	Invernadero CH							
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	220 días tras el trasplante				220 días tras el trasplante			
	Testigo	B	Testigo	B	Testigo	B	Testigo	B
<i>F. oxysporum</i>	118,85ns	178,12ns	16,29a	99,00b	0,00a	191,38b	93,27b	28,41a
<i>F. solani</i>	1.533,18ns	1.302,93ns	519,15a	1.864,98b	25,76a	2.931,09b	978,61a	3.547,36b
<i>F. roseum</i>	0,00ns	0,00ns	23,29a	83,18b	0,00a	34,78b	25,59ns	32,87ns
Total	1.652,03ns	1.481,05ns	558,75a	2.047,17b	25,76a	3.157,24b	1.097,48a	3.608,65b
	Invernadero E							
	Inicio 2001-02		Final 2001-02					
	210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante					
	Testigo	B	Testigo	B				
<i>F. oxysporum</i>	105,44b	5,03a	37,41ns	32,10ns				
<i>F. solani</i>	1.221,39b	41,36a	1.832,92b	172,59a				
<i>F. roseum</i>	308,30b	8,20a	3,21b	0,00a				
Total	1.635,13b	54,59a	1.874,55b	204,70a				

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0.5)}$. ns: no difieren significativamente, T: Testigo, B: Biofumigación.

Gráfico 3.3.8. Comparación de la densidad total de cada una de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas biofumigadas y las que hicieron de control, expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco

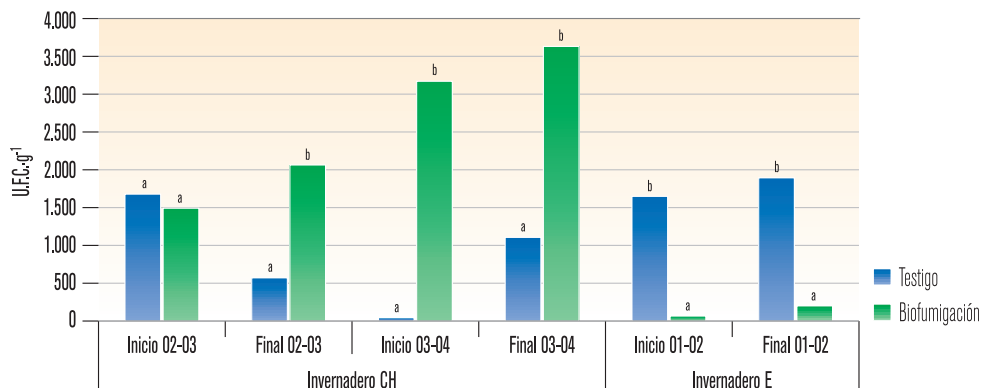
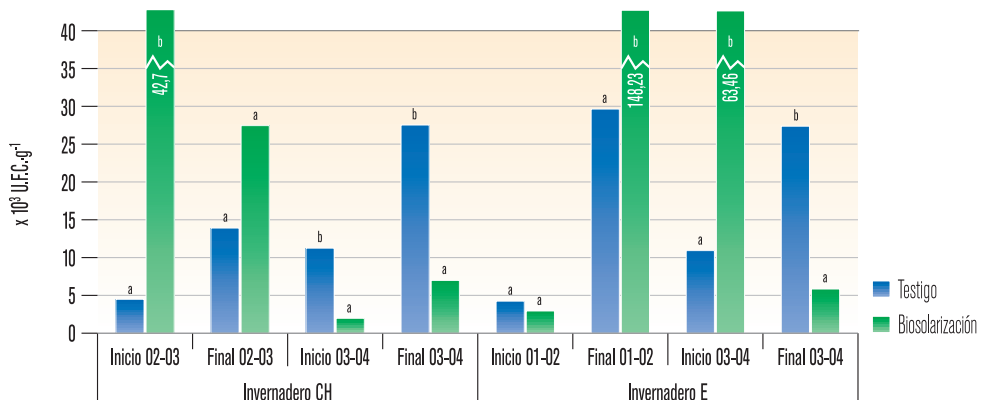


Tabla 3.3.9. Comparación de la densidad de cada uno de los géneros y del total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas biosolarizadas y las que hicieron de control, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

	Invernadero CH							
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	220 días tras el trasplante				220 días tras el trasplante			
	Testigo	B+S	Testigo	B+S	Testigo	B(2°)+S	Testigo	B(2°)+S
<i>Aspergillus</i>	1,07a	41,83b	10,27ns	25,63ns	8,63b	1,20a	22,13b	6,17a
<i>F. solani</i>	0,03ns	0,03ns	0,43ns	0,27ns	0,33b	0,00a	2,20b	0,47a
<i>Rhizopus</i>	3,37b	0,83a	2,93b	1,17a	1,00ns	0,53ns	2,23b	0,23a
<i>Penicillium</i>	0,00ns	0,00ns	0,10a	1,13b	1,26b	0,20a	1,00b	0,03a
Total	4,47a	42,70b	13,73ns	27,20ns	11,23b	1,93a	27,57b	6,90a
	Invernadero E							
	Inicio 2001-02		Final 2001-02		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante				200 días tras el trasplante			
	Testigo	B+S	Testigo	B+S	Testigo	B+2 2°	Testigo	B+S 2°
<i>Aspergillus</i>	0,70a	2,90b	28,10a	146,73b	8,90a	62,53b	25,10b	3,65a
<i>F. solani</i>	0,40ns	0,10ns	0,00ns	0,43ns	0,40ns	0,06ns	0,40a	1,65b
<i>Rhizopus</i>	3,10b	0,00a	1,30ns	1,06ns	0,90ns	0,50ns	0,00a	0,25b
<i>Penicillium</i>	0,05ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,60ns	0,36ns	1,70ns	0,20ns
Total	4,25ns	3,00ns	29,40a	148,23b	10,80a	63,46b	27,20b	5,75a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, B+S: Biosolarización.

Gráfico 3.3.9. Comparación de la densidad total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas biosolarizadas y las que hicieron de control, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco

Parece ser que cuando se realiza por primera vez en el suelo, la biosolarización sí tiene un efecto de control muy acusado sobre la población fusárica, como se demuestra en los resultados recogidos en la Tabla 3.3.10. Además, la densidad total aislada casi siete meses después de trasplantar, refleja la estabilidad del efecto de este proceso sobre los *Fusarium*, independientemente de lo que hubiera sucedido en el transcurso de ese tiempo (a eso vendrá referido el apartado 4. del trabajo).

Tabla 3.3.10. Comparación de la densidad de cada una de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas biosolarizadas y las que hicieron de control, expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

	Invernadero CH							
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	220 días tras el trasplante				220 días tras el trasplante			
	Testigo	B+S	Testigo	B+S	Testigo	B(2°)+S	Testigo	B(2°)+S
<i>F. oxysporum</i>	118,85b	4,11a	16,29b	1,23a	0,00a	98,32b	93,72b	20,01a
<i>F. solani</i>	1.533,18b	41,58a	519,15b	49,52a	25,76b	3,12a	978,61ns	1.450,55ns
<i>F. roseum</i>	0,00ns	0,00ns	23,29b	1,34a	0,00a	4,10b	25,59ns	12,90ns
Total	1.652,03b	45,70a	558,75b	52,10a	25,76ns	105,54ns	1.097,48ns	1.483,47ns
	Invernadero E							
	Inicio 2001-02		Final 2001-02		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	210 días tras el trasplante				200 días tras el trasplante			
	Testigo	B+S	Testigo	B+S	Testigo	B+2 2º	Testigo	B+S 2º
<i>F. oxysporum</i>	105,44b	0,00a	38,41b	0,00a	21,47b	0,00a	26,30a	118,09b
<i>F. solani</i>	1.221,39b	0,00a	1.832,93b	0,00a	412,37b	2,12a	401,18ns	314,43ns
<i>F. roseum</i>	308,30b	0,00a	3,21ns	9,47ns	29,18b	0,00a	0,00ns	0,00ns
Total	1.635,13b	0,00a	1.874,56b	9,47a	463,03b	2,12a	427,49ns	432,52ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente. B+S: Biosolarización.

Al extraer los datos que hacen referencia a la comparación entre los **suelos biofumigados sin plástico** y los **bromurados**, se aprecia una gran similitud sin existir diferencias significativas entre ambos tratamientos (siempre, con una excepción, en este caso, en el invernadero CH, Tabla 3.3.11.) ni al inicio de las campañas ni siete meses después.

Gráfico 3.3.10. Comparación de la densidad total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas biosolarizadas y las que hicieron de control, expresado en U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco

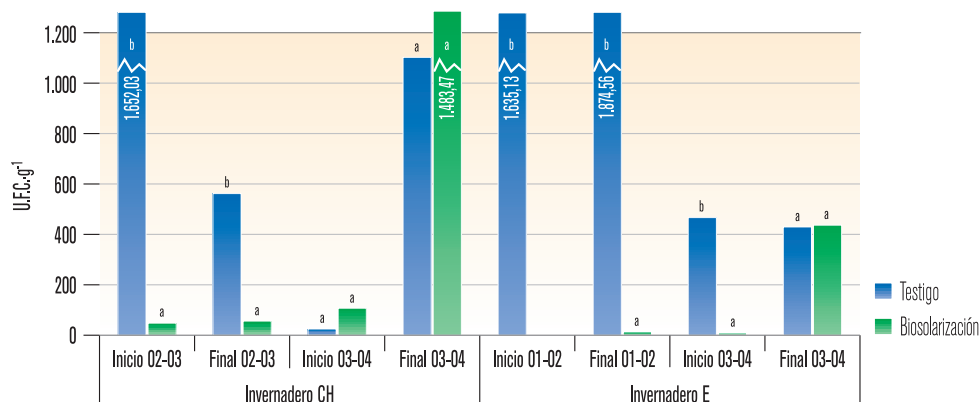
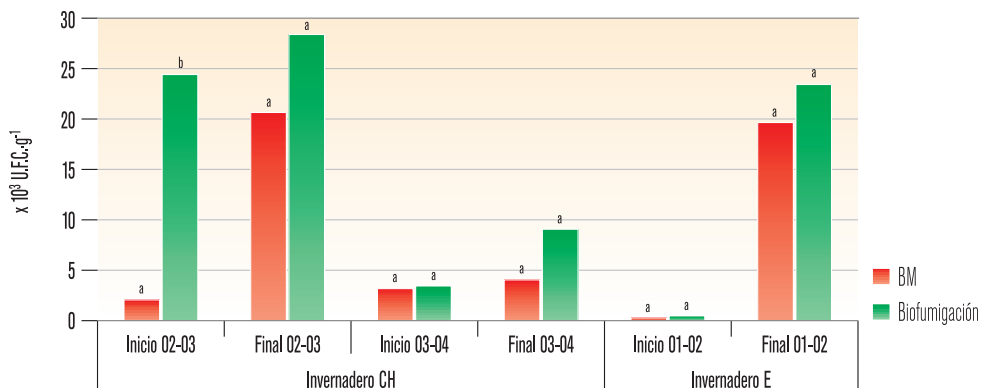


Tabla 3.3.11. Densidad de cada uno de los géneros y del total de hongos al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las biofumigadas, expresado en 10³ U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco*

	Invernadero CH							
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	220 días tras el trasplante				220 días tras el trasplante			
	BM	B	BM	B	BM	B	BM	B
<i>Aspergillus</i>	1,53ns	0,57ns	6,67ns	10,27ns	1,27ns	1,90ns	2,13ns	6,17ns
<i>F. solani</i>	0,23ns	0,00ns	1,77ns	1,73ns	0,00a	0,60b	0,47ns	1,67ns
<i>Rhizopus</i>	0,33a	23,67b	3,50a	14,60b	1,80ns	0,97ns	1,27ns	0,93ns
<i>Penicillium</i>	0,00ns	0,00ns	8,63b	1,53a	0,13ns	0,00ns	0,23ns	0,23ns
Total	2,10a	24,23b	20,57ns	28,13ns	3,20ns	3,47ns	4,10ns	9,00ns
	Invernadero E							
	Inicio 2001-02				Final 2001-02			
	210 días tras el trasplante				210 días tras el trasplante			
	BM	B	BM	B	BM	B	BM	B
<i>Aspergillus</i>	0,00ns	0,00ns	19,53ns	22,25ns				
<i>F. solani</i>	0,00ns	0,30ns	0,00ns	0,00ns				
<i>Rhizopus</i>	0,03ns	0,00ns	0,00ns	1,00ns				
<i>Penicillium</i>	0,00ns	0,20ns	0,00ns	0,00ns				
Total	0,03ns	0,50ns	20,13ns	23,25ns				

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente. BM: Bromuro de metilo, B: Biofumigación.

Gráfico 3.3.11. Comparación de la densidad total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las biofumigadas, expresado en 10^3 U.F.C. g^{-1} de suelo seco



De los resultados presentados en la Tabla 3.3.12., se podría especular acerca de que la adición de estiércol fresco de oveja propiciara una mayor multiplicación de hongos.

Tabla 3.3.12. Comparación de la densidad de cada una de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y las biofumigadas, expresado en U.F.C. g^{-1} de suelo seco*

	Invernadero CH							
	Inicio 2002-03		Final 2002-03		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	220 días tras el trasplante				220 días tras el trasplante			
	BM	B	BM	B	BM	B	BM	B
<i>F. oxysporum</i>	4,37a	178,12b	21,57a	99,00b	0,84a	191,38b	37,21ns	28,41ns
<i>F. solani</i>	105,99a	1.302,93b	433,90a	1.864,98b	23,14a	2.931,09b	1.255,02a	3.547,36b
<i>F. roseum</i>	0,00ns	0,00ns	25,91a	83,18b	0,00a	34,78b	64,09ns	32,87ns
Total	110,37a	1.481,05b	481,39a	2.047,17b	23,98a	3.157,24b	1.356,33a	3.608,65b
	Invernadero E							
	Inicio 2001-02		Final 2001-02					
	210 días tras el trasplante		210 días tras el trasplante					
	BM	B	BM	B				
<i>F. oxysporum</i>	0,00a	5,03b	50,92ns	21,10ns				
<i>F. solani</i>	182,67ns	41,36ns	1.536,26b	172,59a				
<i>F. roseum</i>	4,96ns	8,20ns	0,00ns	0,00ns				
Total	187,63ns	54,59ns	1.587,18b	204,70a				

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente. BM: Bromuro de metilo, B: Biofumigación.

ción de los *Fusaria* (recordemos que es la enmienda orgánica del invernadero CH), y esa sería la única diferencia de dicho tratamiento con la enmienda orgánica aplicada en el invernadero E (crisantemo+gallinaza).

La acumulación y/o multiplicación de los *Fusaria* fue bastante más acusada en las parcelas solamente biofumigadas que en las bromuradas al inicio y al final del cultivo en el invernadero CH en las dos campañas de cultivo estudiadas. En el invernadero E, tuvo lugar el efecto contrario.

Gráfico 3.3.12. Comparación de la densidad total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y biofumigadas, expresado en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco

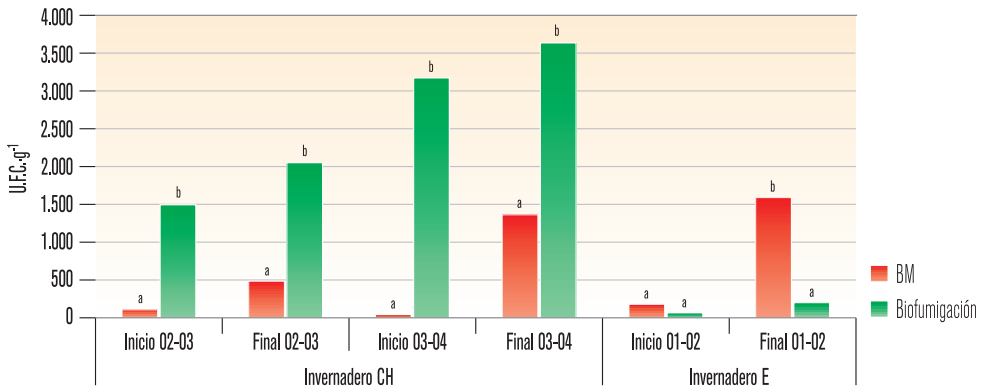


Gráfico 3.3.13. Comparación de la densidad total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y biosolarizadas expresado en 10³ U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco

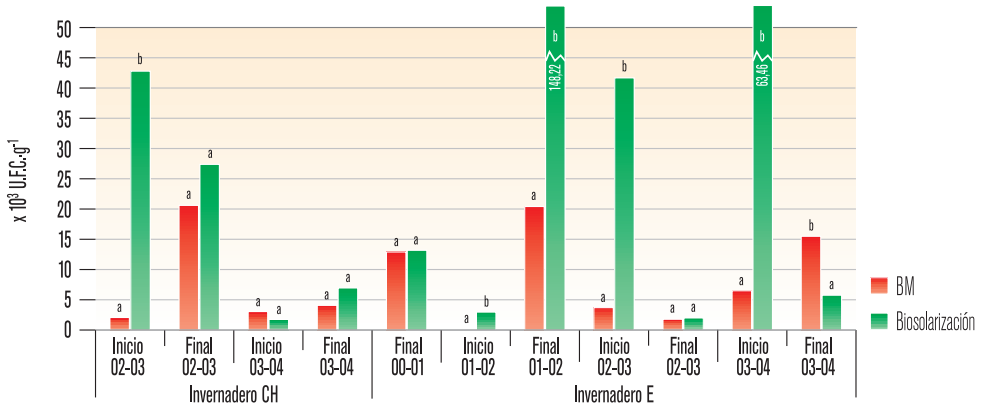


Tabla 3.3.13. Comparación de la densidad de cada uno de los géneros y del total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y biosolarizadas, expresado en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

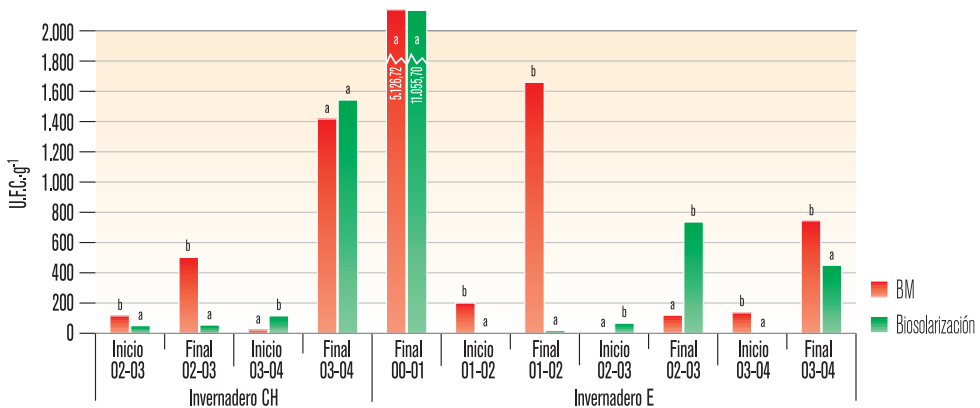
	Invernadero CH											
	Inicio 2002-03			Final 2002-03			Inicio 2003-04			Final 2003-04		
	220 días tras el trasplante						220 días tras el trasplante					
	BM	B+S	BM	B+S	BM	B(2 ^o)+S	BM	B(2 ^o)+S	BM	B(2 ^o)+S	BM	B(2 ^o)+S
<i>Aspergillus</i>	1,53a	41,83b	6,67a	25,63b	1,27ns	1,20ns	2,13a	6,17b				
<i>F. solarii</i>	0,23ns	0,03ns	1,77b	0,27a	0,00ns	0,00ns	0,47ns	0,47ns				
<i>Rhizopus</i>	0,33ns	0,83ns	3,50b	0,17a	1,80b	0,53a	1,27b	0,23a				
<i>Penicillium</i>	0,00ns	0,00ns	8,63b	1,13a	0,13ns	0,20ns	0,23b	0,003a				
Total	2,10a	42,70b	20,75ns	27,20ns	3,20ns	1,93ns	4,10ns	6,90ns				
Invernadero E												
	Inicio 2001-02			Final 2001-02			Inicio 2002-03			Final 2003-04		
	200 días tras el trasplante						200 días tras el trasplante					
	BM	B+S2 ^o	B+S	BM	B+S2 ^o	B+S	BM	B+S2 ^o	B+S	BM	B+S2 ^o	B+S
<i>Aspergillus</i>	6,66ns	7,00ns	0,00a	2,90b	19,53a	146,73b	1,70a	40,00b	0,43ns	0,47ns	4,10a	62,53b
<i>F. solarii</i>	0,13ns	0,03ns	0,00ns	0,10ns	0,00a	0,43b	0,60ns	0,63ns	0,00ns	0,00ns	0,30ns	0,06ns
<i>Rhizopus</i>	2,93ns	4,93ns	0,00ns	0,00ns	0,60ns	1,06ns	1,00ns	0,50ns	0,57ns	1,00ns	0,46ns	0,50ns
<i>Penicillium</i>	3,10b	1,20a	0,03ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns	1,30b	0,07a	0,13ns	0,03ns	1,66ns	0,36ns
Total	12,83ns	13,16ns	0,03a	3,00b	20,13a	148,23b	3,60a	41,20b	1,13ns	1,50ns	6,53a	63,46b
												15,50ns
												5,75ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente. BM: Bromuro de metilo, B: Biofumigación, B+S: Biosolarización.

Respecto al comportamiento de los suelos **bromurados** y los que fueron **biosolarizados**, las cifras correspondientes a la microbiota fúngica total presente (Tabla 3.3.13.) muestran cómo la desinfección con biosolarización permite una mayor recolonización del suelo por parte de la microbiota fúngica no patógena frente al bromuro de metilo justo antes de realizar el trasplante en la mayoría de los casos. En este sentido, en el último muestreo correspondiente al final de las campañas, se aprecia como la efectividad de la biosolarización frente a los hongos comúnmente aislados no se diferencia significativamente.

En la Tabla 3.3.14., destacan las densidades de partida de las poblaciones de *Fusarium* en las parcelas bromuradas frente al mayor control ejercido en aquellas que habían sido biosolarizadas. Este comportamiento además, se da también al finalizar el cultivo.

Gráfico 3.3.14. Comparación de la densidad total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y biosolarizadas expresado en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco



INVERNADERO Q

En este invernadero se evaluaron desinfecciones con metam sodio combinado con solarización, adición de *Trichoderma* (preparado comercial) a plántulas en el semillero que se trasplantaron a un suelo solarizado, y como tratamiento de referencia, el bromuro de metilo. No hubo, por tanto, testigo sin tratar (blanco).

Tabla 3.3.14. Comparación de la densidad de cada uno de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas y biosolarizadas, expresado en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

	Invernadero CH											
	Inicio 2002-03			Final 2002-03			Inicio 2003-04			Final 2003-04		
	220 días tras el trasplante			220 días tras el trasplante			220 días tras el trasplante			220 días tras el trasplante		
	BM	B+S	B+S	BM	B+S	BM	B(2 ^o)+S	BM	B(2 ^o)+S	BM	B(2 ^o)+S	
<i>F. oxysporum</i>	4,37ns	4,11ns	1,23a	21,57b	1,23a	0,84a	98,33b	372,1ns	20,01ns			
<i>F. solani</i>	105,99b	41,58a	49,62a	433,90b	49,62a	23,14b	3,12a	1.255,02ns	1.450,55ns			
<i>F. roseum</i>	0,00ns	0,00ns	1,34a	25,91b	1,34a	0,00a	4,10b	64,09b	12,90a			
Total	110,37b	45,70a	52,10a	481,39b	52,10a	23,98a	105,55b	1.356,33ns	1.483,47ns			
Invernadero E												
	Inicio 2001-02			Final 2001-02			Inicio 2002-03			Final 2003-04		
	200 días tras el trasplante			200 días tras el trasplante			240 días tras el trasplante			200 días tras el trasplante		
	BM	B+S2 ^o	B+S2 ^o	BM	B+S2 ^o	B+S2 ^o	BM	B+S2 ^o	BM	B+S2 ^o	B+S2 ^o	
<i>F. oxysporum</i>	2,231,30ns	2,545,43ns	0,00ns	50,92b	0,00a	0,00a	52,67b	26,79ns	0,00ns	103,26ns	118,09ns	
<i>F. solani</i>	2,497,57ns	7,744,59ns	182,67b	1,536,26b	0,00a	0,00a	16,34b	83,19a	129,41b	2,12a	314,43a	
<i>F. roseum</i>	397,84ns	765,6ns	4,96b	0,00a	9,46b	0,00ns	0,00	7,63a	80,49b	0,00ns	0,00ns	
Total	5.126,72ns	11.055,70ns	187,63b	1.587,18b	9,46a	0,00a	69,01b	117,62a	705,58b	2,12a	432,52a	

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo, B: Biotumigación, B+S: Biosolarización.

Año 2002

a) *Microbiota total*

Un aspecto a destacar es la baja población de hongos en estos suelos, siendo considerablemente diferente la presencia de *Aspergillus*.

Otra observación sería el escaso control ejercido por el bromuro de metilo sobre la microbiota, como ya se detectó en los invernaderos E y H y en algún ensayo del invernadero CH. Al igual que sucede con el metam-sodio acompañado de solarización.

Una observación final es la baja instalación de *Trichoderma* en el suelo donde se trasplantaron plantas con su cepellón tratado con $1,5 \cdot 10^8$ conidias/g U.F.C. \cdot ml⁻¹. Sin embargo, el suelo donde se aplicaron los tratamientos con bromuro de metilo y con metam-sodio más solarización, sí tenían el hongo, como muestran los análisis previos. Luego la evaluación sería totalmente imputable a la técnica analítica utilizada.

Tabla 3.Q.1. Variaciones de la microbiota fúngica total expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco y porcentaje de cada género en el invernadero Q para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección*

	Antes					
	BM	%	Sol+Metam Na	%	Sol+ <i>Trichoderma</i> 1	%
<i>Aspergillus</i>	18,80b	57,73	19,50b	80,15	2,58a	29,62
<i>F. solani</i>	4,55b	13,97	1,48a	6,08	1,33a	15,26
<i>Rhizopus</i>	0,43ns	1,32	0,55ns	2,26	0,50ns	5,74
<i>Penicillium</i>	1,38b	4,23	0,00a	-	4,30c	49,36
<i>Trichoderma</i>	7,40c	23,73	2,80b	11,51	0,00a	-
Total	32,56b	100	24,33b	100	8,71a	100
	Después					
	BM	%	Metam Na	%	<i>Trichoderma</i>	%
<i>Aspergillus</i>	10,05b	35,26	1,30a	11,11	0,75a	13,51
<i>F. solani</i>	14,45c	50,70	10,40b	88,89	4,25a	76,58
<i>Rhizopus</i>	3,85b	13,51	0,00a	-	0,25a	4,50
<i>Penicillium</i>	0,15ns	0,53	0,00ns	-	0,00ns	-
<i>Trichoderma</i>	0,00ns	-	0,00ns	-	0,30ns	5,41
Total	28,50c	100	11,70b	100	5,55a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo, Sol: solarización.

En el muestreo de antes de aplicar los tratamientos (Tabla 3.Q.1.), y respecto a la microbiota total presente, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos donde se había desinfectado con productos químicos (se dieron las mayores densidades) y las parcelas donde se habían aplicado formulados de *Trichoderma* a las plántulas. La especie representada en mayor proporción en las parcelas desinfectadas con metam sodio y bromuro de metilo fue *Aspergillus* spp., que compartió relativa importancia con *Penicillium* spp. en donde se aplicó *Trichoderma*. El mismo comentario, respecto a los desinfectantes químicos aconteció tras realizar la desinfección, donde destacó la proporción de *Fusarium* respecto a los demás géneros de hongos aislados.

Metam sodio fue el único tratamiento que mostró diferencias significativas entre antes y después de realizar la desinfección en relación a las poblaciones fúngicas (Tabla 3.Q.2.). Incluso para el mismo género *Trichoderma* spp., la aportación de sus preparados no facilitó una gran colonización en el suelo.

Tabla 3.Q.2. Efecto de los desinfectantes sobre los hongos mayoritariamente aislados expresado en 10^3 U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero Q*

	BM		Metam Na		<i>Trichoderma</i>	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
<i>Aspergillus</i>	18,80ns	10,05ns	19,50b	1,30a	2,58b	0,75a
<i>F. solani</i>	4,55a	14,45b	1,48a	10,40b	1,33a	4,25b
<i>Rhizopus</i>	0,43a	3,85b	0,55b	0,00a	0,50ns	0,25ns
<i>Penicillium</i>	1,38b	0,15a	0,00ns	0,00ns	4,30b	0,00a
<i>Trichoderma</i>	7,40b	0,00a	2,80b	0,00a	0,00ns	0,30ns
Total	31,18ns	28,50ns	24,33b	11,70a	4,40ns	5,55ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM 30: Bromuro de metilo, Sol: Solarización.

El bromuro de metilo no mostró diferencias significativas en cuanto a la desinfección (Tabla 3.Q.3.), al igual que la aportación de formulados de *Trichoderma* spp. a las plántulas. Contrariamente a lo que se pudiera preveer, *F. solani* y *Rhizopus* spp. aumentaron su presencia ($\pm 70\%$ más), pero *Penicillium* spp. y *Trichoderma* spp. sí disminuyeron sus densidades.

La adición de *Trichoderma*, favoreció la multiplicación del inóculo presente de *F. solani* en el suelo y fue capaz de reducir la presencia de *Aspergillus* spp. y de *Penicillium* spp. (Tabla 3.Q.3.).

Tabla 3.Q.3. Porcentaje de variación de hongos después de la desinfección respecto del desinfectante empleado en el invernadero Q*

	BM	Metam Na	<i>Trichoderma</i>
<i>Aspergillus</i>	-	-93,33%	-70,93%
<i>F. solani</i>	+68,51%	+85,77%	+68,70%
<i>Rhizopus</i>	+88,83	-100%	-
<i>Penicillium</i>	-89,13%	-	-100%
<i>Trichoderma</i>	-100%	-100%	-
Total	-	-51,91%	-

* Porcentajes expresados con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos obtenida. BM 30: Bromuro de metilo.

En la línea de lo que se ha venido exponiendo, se representa aquí también lo que tuvo lugar en otros invernaderos, también con fines comerciales y comparar los resultados de los análisis de suelos tanto bromurados como sin ningún tratamiento frente a los que recibieron plantas estimuladas con este hongo. Se aprecia lo siguiente: no hubo diferencias significativas entre la microbiota fúngica no patógena medida en el suelo en contacto con las raíces de las plantas que no recibieron ningún tratamiento y las que fueron estimuladas con *Trichoderma* (Tabla 3.3.15.), al menos al inicio del cultivo. Las bromuradas sí que se diferenciaron en algunos casos de las estimuladas, que soportaron una densidad de hongos superior en todos los casos al inicio del cultivo y en la mayoría, al final del mismo.

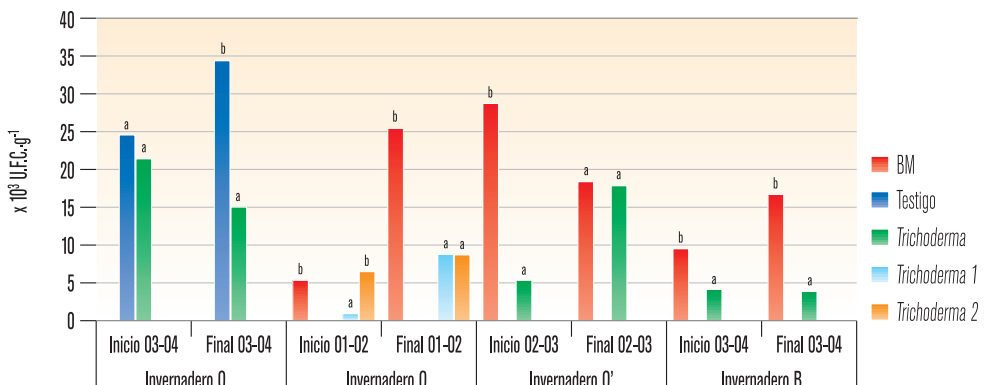
Gráfico 3.3.15. Comparación de la densidad total de hongos medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas que hicieron de control o fueron bromuradas y las que tuvieron plantas estimuladas con *Trichoderma*, expresado en 10^3 U.F.C. g^{-1} de suelo seco

Tabla 3.3.15. Comparación de la densidad de cada uno de los géneros aislados al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas bromuradas, las estimuladas con *Trichoderma* y las que hicieron de control, expresado en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

	Invernadero O						Invernadero B					
	Inicio 2003-04		Final 2003-04		Inicio 2003-04		Final 2003-04		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	240 días tras el trasplante						210 días tras el trasplante					
	Testigo	<i>Trichoderma</i>	Testigo	<i>Trichoderma</i>	Testigo	<i>Trichoderma</i>	Testigo	<i>Trichoderma</i>	Testigo	<i>Trichoderma</i>	Testigo	<i>Trichoderma</i>
<i>Aspergillus</i>	19,96ns	15,83ns	33,93b	13,63a	5,45b	1,15a	12,56b	0,83a				
<i>F. solani</i>	3,30ns	4,50ns	0,06ns	0,36ns	1,65b	0,00a	2,06b	0,10a				
<i>Rhizopus</i>	1,06ns	0,90ns	0,10a	0,73b	1,10ns	2,86ns	1,96ns	2,73ns				
<i>Penicillium</i>	0,00ns	0,00ns	0,03ns	0,03ns	1,20b	0,00a	0,00ns	0,10ns				
<i>Trichoderma</i>	0,00ns	0,23ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns				
Total	24,33ns	21,46ns	34,13b	14,76a	9,40b	4,01a	16,60b	3,76a				
	Invernadero Q						Invernadero Q'					
	Inicio 2001-02		Final 2001-02		Inicio 2001-02		Final 2001-02		Inicio 2002-03		Final 2002-03	
	220 días tras el trasplante						240 días tras el trasplante					
	BM	<i>Trich1</i>	BM	<i>Trich1</i>	BM	<i>Trich2</i>	BM	<i>Trich2</i>	BM	<i>Trich</i>	BM	<i>Trich</i>
<i>Aspergillus</i>	4,90b	0,28a	18,80b	2,58a	4,90ns	2,54ns	18,80b	1,83a	10,05b	0,75a	3,60ns	
<i>F. solani</i>	0,00ns	0,00ns	4,55b	1,33a	0,00ns	0,15ns	4,55ns	2,93ns	14,4b	4,25a	10,15ns	
<i>Rhizopus</i>	0,25ns	0,20ns	0,43ns	0,50ns	0,25a	2,00b	0,43b	0,00a	3,85b	0,25a	3,05ns	
<i>Penicillium</i>	0,05a	0,38b	1,38a	4,30b	0,05a	1,63b	1,38a	3,83b	0,15ns	0,00ns	1,40b	
<i>Trichoderma</i>	0,30b	0,00a	740b	0,00a	0,30ns	0,20ns	740b	0,00a	0,00a	0,30b	0,15ns	
Total	5,50b	0,86a	32,56b	8,71a	5,50ns	6,52ns	32,56b	8,59a	28,50b	5,55a	18,30ns	

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo.

b) MICROBIOTA FUSÁRICA

Si el análisis de microbiota total ha permitido conocer que las muestras tenían una baja población fúngica, no sucede lo mismo con el género *Fusarium*. Varios comentarios son pertinentes:

- Las elevadas densidades de *Fusarium*, después de las aplicaciones desinfectantes, que alcanzan un máximo en el tratamiento con bromuro de metilo.
- La presencia preponderante de *F. solani* corrobora todas las observaciones y mediciones realizadas.

En relación a la totalidad de la microbiota fusárica, y más concretamente con *F. solani* y *F. roseum*, en el muestreo realizado al final de la campaña 2001/2002 y correspondiente con el de antes de llevar a cabo la desinfección, se observan diferencias significativas entre el bromuro de metilo y los otros dos tratamientos objeto de comparación: metam sodio y *Trichoderma* 1, triplicando al menos las densidades presentes (Tabla 3.Q.4.).

La importancia relativa de las distintas especies de *Fusarium*, expresada como porcentaje respecto a la microbiota fusárica total, se aprecia en la Tabla 3.Q.4., donde claramente predomina *F. solani* en cualquiera de los tratamientos que se habían realizado en el suelo.

Tabla 3.Q.4. Variaciones de la microbiota fusárica expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y porcentaje de cada especie en el invernadero Q para los diferentes tratamientos antes y para los diferentes tratamientos después de realizar la desinfección*

	Antes					
	BM	%	Sol+Metam Na	%	Sol+ <i>Trichoderma</i> 1	%
<i>F. oxysporum</i>	21,45b	1,68	9,20ab	22,71	3,98a	0,85
<i>F. solani</i>	1.222,34b	95,96	327,51a	96,56	462,52a	99,15
<i>F. roseum</i>	30,01b	2,35	2,33a	0,68	0,00a	-
Total	1.273,81b	100	339,04a	100	466,50a	100
	Después					
	BM	%	Metam Na	%	<i>Trichoderma</i>	%
<i>F. oxysporum</i>	941,28ab	9,58	708,65a	12,48	3.646,94b	49,04
<i>F. solani</i>	8.856,41b	90,15	4.746,41ab	83,65	3.646,94a	49,04
<i>F. roseum</i>	26,27a	6,27	218,97c	3,85	143,08b	1,92
Total	9.823,97b	100	5.674,04a	100	7.436,97ab	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos antes de la desinfección y entre tratamientos después de la desinfección indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, Sol: solarización.

Las parcelas bromuradas fueron las que alojaron las mayores densidades de *Fusarium* spp. tras hacer la desinfección, cuyo comportamiento no se diferenció de las que tuvieron plantas estimuladas con *Trichoderma*.

En el muestreo realizado tras la desinfección, justo antes de la plantación, el comportamiento de las poblaciones de *F. oxysporum* fue similar en las parcelas bromuradas y con metam sodio, diferenciándose éstas últimas de donde las plantas fueron estimuladas con *Trichoderma* que alcanzaron las mayores densidades. En cuanto a *F. solani*, no hubo diferencias ni entre metam sodio y *Trichoderma*, ni entre BM y metam sodio. Sí las hubo entre *Trichoderma* y BM siendo estas últimas parcelas las que alojaron mayores densidades (Tabla 3.Q.4.).

De los análisis realizados tras la desinfección de suelo, se extrae que ninguno de los tratamientos logró reducir la población fusárica presente; más bien todo lo contrario: en todos se aislaron densidades mucho más altas que al final del cultivo anterior, especialmente en lo referente a las especies *F. oxysporum* y *F. solani*. *F. roseum* sí mostró diferencias en todos los tratamientos, aislándose mayoritariamente en las parcelas desinfectadas con metam sodio (Tabla 3.Q.5.).

Tabla 3.Q.5. Efecto de los desinfectantes sobre las especies de *Fusarium* spp. aisladas expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco antes y después de realizar la desinfección en el invernadero Q*

	BM		Metam Na		<i>Trichoderma</i>	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
<i>F. oxysporum</i>	21,45a	941,28b	9,20a	708,65b	3,98a	3.646,94b
<i>F. solani</i>	1.222,34a	8.856,41b	327,51a	4.746,41b	462,52a	3.646,94b
<i>F. roseum</i>	30,01ns	26,27ns	2,33a	218,97b	0,00a	143,08b
Total	1.273,81a	9.823,97b	339,04a	5.674,04b	466,50a	7.436,97b

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre antes y después de la desinfección para cada tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0.5)}$. ns: no difieren significativamente. BM: Bromuro de metilo, Sol: Solarización.

Tabla 3.Q.6. Porcentaje de variación de inóculo de cada especie de *Fusarium* spp. aislada respecto del desinfectante empleado después de la desinfección en el invernadero Q*

	BM	Metam Na	<i>Trichoderma</i>
<i>F. oxysporum</i>	+97,72%	+98,70%	+99,89%
<i>F. solani</i>	+86,19%	+93,09%	-87,31%
<i>F. roseum</i>	-	+98,93%	+100%
Total	+87,03%	+94,02%	+93,72%

* Porcentajes expresados con el signo positivo indican un aumento y con el signo negativo indican una reducción en la densidad de hongos obtenida. BM: Bromuro de metilo, Sol: solarización.

Tabla 3.3.16. Comparación de la densidad de cada una de las especies y del total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas que hicieron de control o fueron bromuradas y las que tuvieron plantas estimuladas con *Trichoderma*, expresado en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

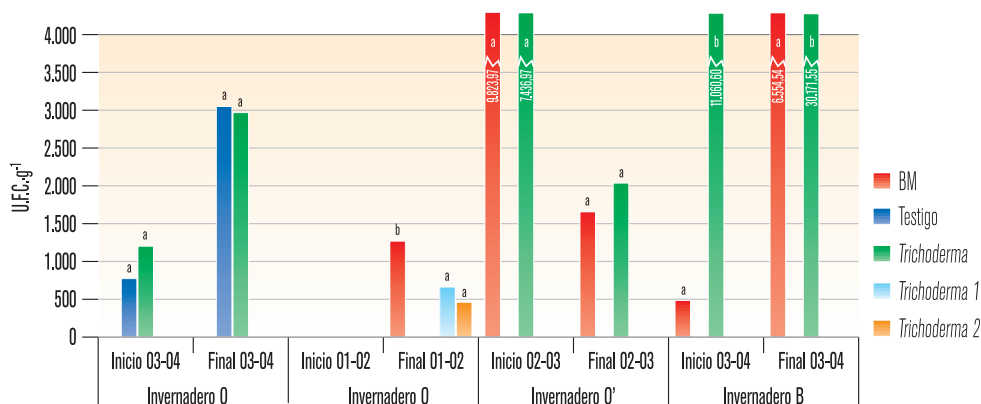
	Invernadero O				Invernadero B			
	Inicio 2003-04		Final 2003-04		Inicio 2003-04		Final 2003-04	
	240 días tras el trasplante				210 días tras el trasplante			
	Testigo	<i>Trichoderma</i>	Testigo	<i>Trichoderma</i>	Testigo	<i>Trichoderma</i>	Testigo	<i>Trichoderma</i>
<i>F. oxysporum</i>	56,7ns	75,67ns	9,06ns	15,46ns	0,00a	23706b	514,60a	6,753,66b
<i>F. solani</i>	723,84ns	1,112,36ns	3,008,32ns	2,932,26ns	478,08a	10,806,70b	5,972,92a	23,417,89b
<i>F. roseum</i>	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,00a	16,83b	6700b	0,00a
Total	760,61ns	1,188,04ns	3,017,39ns	2,947,73ns	478,08a	11,060,60b	6,554,54a	30,171,55b
	Invernadero Q							
	Inicio 2001-02		Final 2001-02		Inicio 2001-02		Final 2001-02	
	220 días tras el trasplante				240 días tras el trasplante			
	BM	<i>Trich1</i>	BM	<i>Trich2</i>	BM	<i>Trich2</i>	BM	<i>Trich</i>
<i>F. oxysporum</i>	0,00ns	21,45b	2,37a	0,00ns	21,49b	3,98a	941,28a	3,646,94b
<i>F. solani</i>	0,00ns	1,222,34b	662,24a	0,00a	1,222,34b	462,52a	8,856,41b	3,646,94a
<i>F. roseum</i>	0,00ns	30,01b	0,00a	0,00ns	30,01b	0,00a	26,27ns	143,08ns
Total	0,00ns	1,273,81b	664,62a	0,00a	1,273,81b	466,50a	9,823,97ns	7,436,97ns
								1,648,13ns
								2,025,01ns

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al inicio y entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo.

La única especie que no mostró diferencias significativas al hacer la desinfección fue *F. roseum* en las parcelas desinfectadas con bromuro de metilo (Tabla 3.Q.6).

Las plantas que fueron estimuladas con el hongo, no se diferenciaron en ningún momento de las que no recibieron el hongo, aunque sí que parece permitieron una mayor multiplicación de los *Fusaria* en el suelo respecto de los suelos bromurados en uno de los casos estudiados, apenas diferenciándose en el resto (Tabla 3.3.16). Al final del cultivo, se detectaron menos colonias de *Fusarium* en las parcelas con plantas estimuladas en dos de los cinco casos estudiados respecto a las parcelas bromuradas.

Gráfico 3.3.16. Comparación de la densidad total de *Fusarium* spp. medida al inicio y al final de diferentes campañas e invernaderos entre las parcelas que hicieron de control o fueron bromuradas y las que tuvieron plantas estimuladas con *Trichoderma*, expresado en U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco



3.4. ENSAYO DE SÍNTESIS Y CONCLUSIONES

El propósito básico de los resultados presentados era conocer si los tratamientos al suelo, cultivado con pimiento bajo invernadero, podían mostrar algún rasgo de degradación, rastreando a través de los análisis de las microbiotas fúngicas total y fusárica. Conscientes de la imperfección de los métodos analíticos y de la fracción de la limitada microbiota fúngica analizada, los resultados han permitido establecer, que los hongos presentes de manera continua en todos los ensayos han sido: *Aspergillus flavus* y *A. niger*, *Rhizopus stolonifer* y *R. nigricans*, *Penicillium italicum* y *P. expansum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *F. roseum*. Otros no presentados como *Cladosporium*, *Alternaria*,

Stemphyllium, *Mortierella*, o *Chaetomium*, han tenido muy escasa y errática expresión analítica, después de la desinfección y en algunos casos, hasta el punto de no tener expresión analítica. Sin embargo, han vuelto a ser aislados conforme transcurría el tiempo. Por lo tanto, considerando las desinfecciones químicas, así como a éstas combinadas con solarización y teniendo en cuenta las “aplicaciones biológicas” (biofumigación, biosolarización, adición de antagonistas como *Trichoderma*), los resultados sólo han diferido en la disminución de la densidad de inóculo, pero no han ocasionado la desaparición de ningún género y/o especie.

Las especies más abundantes y más frecuentes –presentes en la práctica totalidad de los análisis– han sido *Aspergillus flavus* y *Fusarium solani*. Es más, podría decirse que después de las aplicaciones desinfectantes, eran las que se aislaban mayoritariamente.

Los ensayos de desinfección han permitido poner de manifiesto varios hechos que pueden tener importancia:

- El efecto desinfectante ha podido detectarse en gran medida después de la aplicación, especialmente para el caso del bromuro de metilo, el telone C-35 y la biosolarización. La disminución de la densidad, en cualquier caso, es temporal, y este comentario sería un preámbulo de lo expuesto en el apartado 4.
- Pero, en cualquier caso, los desinfectantes del suelo ensayados, químicos o no, no eliminan ninguna de las especies (o géneros de hongos) que están en el suelo.
- La recolonización después de la desinfección favorece (o mejor, restaura) la microbiota de partida en proporciones comparables. Luego, si esto es así, es posible imputar a los hongos más abundantes una participación total o parcial en el fenómeno de “fatiga” observado.
- La biosolarización tiene un efecto desinfectante equiparable al del bromuro de metilo (98:2). Sin embargo, algunos resultados sugieren que las densidades de la microbiota fúngica son mayores en el tratamiento con materia orgánica. En los ensayos en los cuales la biofumigación se evaluó como testigo, las densidades de hongos fueron significativamente superiores a los tratamientos de biosolarización y con otros químicos.
- También, estos mismos resultados, sugieren que el efecto de la gallinaza sobre la disminución de las poblaciones fúngicas es netamente mayor cuando se acompaña su descomposición con solarización.

- El uso de *Trichoderma*, añadida al cepellón de las plantas de pimiento antes de trasplantar, no parece influir sobre el resto de microbiota fúngica. Item más, su instalación en el suelo, no se ha podido evaluar a pesar de desinfectar con solarización, mientras que la técnica permitió aislar el hongo en el suelo del mismo invernadero que había sido tratado con bromuro de metilo y metam sodio más solarización.

**VARIACIÓN DE LA MICROBIOTA
FÚNGICA NO PATÓGENA EN EL
SUELO DURANTE EL CICLO
DE CULTIVO**

4. VARIACIÓN DE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA EN EL SUELO DURANTE EL CICLO DE CULTIVO

4.1. INTRODUCCIÓN

Aunque escasos, son algunos los trabajos que abordan el estudio de la variación en la composición microbiológica del suelo a lo largo del crecimiento vegetativo de la planta en cultivos hortícolas. La mayoría, vienen referidos a las poblaciones bacterianas. Tal es así, que algunos autores como ACERO *et al.* (1994) encontraron que la composición de las poblaciones de microorganismos de la rizosfera del aliso (*Alnus*) se alternaba entre unas dominadas por *Bacillus* spp. en otoño-invierno y otras dominadas por *Pseudomonas* spp. en primavera-verano. Los trabajos desarrollados por DE CAL *et al.* (2005) en viveros de fresa sí que se asemejan bastante en cuanto a la cadencia en la toma de muestras y en el análisis microbiológico de las mismas.

El medio edáfico puede influir de distintas maneras sobre la presencia de hongos en las raíces de las plantas: a través de su efecto sobre el crecimiento y el vigor de la planta superior, mediante efectos comparables sobre los hongos que intervienen en la colonización de la raíz y a través de su influencia sobre la relación planta-hongo (TAYLOR, 1962). De ello, se extrae que se pone de relieve la necesidad de emplear condiciones reguladas y bien definidas cuando se lleven a cabo experimentos comparativos sobre la naturaleza de la microbiota de la superficie radical de diferentes plantas.

SØRENSEN (1997) estudió los cambios producidos en raíces maduras de suelos cultivados y advirtió que las sucesiones estacionales pueden observarse cuando la actividad microbiana varía con la temperatura, el contenido de agua, la nutrición y los exudados de la raíz. Como ya se indicó con anterioridad, en el apartado 1.6.4., SUBBA RAO (1999) refirió que las fluctuaciones estacionales en el número de hongos presentes en el suelo no son frecuentes en zonas no cultivadas, y que las prácticas culturales son las que influyen en la naturaleza y composición de las especies fúngicas.

PARKINSON (1957), JACKSON (1960), PARKINSON *et al.* (1964) afirmaban que tras el trasplante y durante las primeras semanas de desarrollo de la raíz en el

suelo, puede aislarse de las proximidades de ésta un gran número de especies de hongos. Según los mismos autores, la colonización de la zona de actuación de las raíces por los hongos no tiene lugar hasta que la raíz tiene unas semanas de edad. Una vez establecida una población, ésta se mantiene constante hasta el momento de la senescencia del sistema radical, de forma que la abundancia relativa de cada una de las especies resulta poco alterada.

Por otro lado, HAWEN (1990), afirmaba que los exudados de la raíz tienen una enorme influencia en la diversidad de microorganismos dentro de la zona de suelo en contacto con las raíces. Según el autor, las interacciones inducidas por los exudados que resultaban desfavorables para la germinación de los propágulos, así como para el crecimiento y colonización de las raíces por parte de los patógenos de plantas, estarían asociados, a menudo, con la actividad de otros microorganismos de la rizosfera.

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

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

En cuanto a la influencia del pH del suelo para el desarrollo de determinada población de microorganismos, PARKINSON y CLARKE (1961), observaron que *Fusarium* predominaba y se multiplicaba en mayor medida en suelos ácidos en todos los análisis realizados en medio selectivo. *Penicillium* spp. y *Trichoderma* spp. eran los colonizadores dominantes cuando el valor del pH era mínimo (3.2). Según los mismos autores, *Fusarium* spp. parecía no estar influenciado únicamente por el pH, sino por la abundancia de inóculo disponible y la capacidad competitiva de las cepas allí existentes.

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

Gracias a trabajos como los de GARRET (1951), sabemos que existen dos modos para los hongos de asegurarse el sustrato: mediante el crecimiento de mi-

celio a partir de un sustrato ya colonizado (sería el caso de muchas especies de *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Rhizopus*, o mediante la producción de esporas u otros propágulos (en el caso de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*).

La necesidad y el interés por conocer los cambios sufridos, si es que los hay, a nivel fúngico que tienen lugar en el suelo tras realizar las desinfecciones en los invernaderos de pimiento y su influencia en la colonización o no de determinados géneros de hongos, quedan plasmados en los trabajos de MARTÍNEZ *et al.* (2004, 2004a y 2004b).

4.2. OBJETIVOS GENERALES

Como complemento al estudio del efecto de los diferentes tratamientos llevados a cabo en los distintos invernaderos, ya fueran mediante métodos químicos o no, se hacía necesario abordar el análisis del suelo cada cierta periodicidad. Se detectarían así los posibles cambios en la población de hongos en la zona de influencia de las raíces de la planta y se conocería la presión ejercida en el suelo (y en la planta) por el nivel de inóculo presente en cada momento del cultivo. ¿Tendría además alguna repercusión sobre las producciones medidas?

Con objeto de conocer la supuesta influencia de la planta en la población fúngica no patógena, también se compararon muestras de suelo de zonas colonizadas por la raíz con las de la parcela sin planta cultivada así como de la parcela sin planta pero humedecidas a propósito para provocar una situación diferencial. Se plantearon ensayos durante un ciclo de cultivo con tal fin en los tres invernaderos experimentales que han constituido la base del trabajo, H, CH y E. ¿Serían de nuevo los mismos hongos ya aislados?, ¿Se seleccionaría alguna otra especie no encontrada anteriormente?. ¿Cambiaría la composición de los géneros en unas zonas u otras dependiendo de la proximidad a las raíces o a las zonas más húmedas?

La exposición de los resultados, obedece al análisis de los tres efectos medidos que se indican a continuación y su relación con la variación de la microbiota en el ciclo de cultivo, a saber:

- 1) El efecto del humedecimiento del suelo durante el cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en suelos con diferentes tratamientos.
- 2) El efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica aislada no patógena en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos.
- 3) El efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción.

Los demás invernaderos cuyo suelo fue analizado de forma continuada, fueron objeto del estudio de los puntos 2) y 3) en la mayoría de casos. Sólo en los invernaderos Q y Q' no se midió ni el crecimiento de las plantas ni la producción.

El interés por conocer los cambios sufridos a lo largo del ciclo de cultivo a escala fúngica en función de las desinfecciones llevadas a cabo, fueron el núcleo común de muchos de los invernaderos muestreados a lo largo de una única o diferentes campañas de cultivo.

4.3. MATERIALES Y MÉTODOS

Como se detalla en el apartado 2.1.1. de los materiales y métodos generales, cada vez que correspondía tomar muestras de suelo, se hacía de forma que estuviese compuesta de cinco submuestras que se tomaban siguiendo un diseño al tresbolillo sobre dos de las líneas de cada parcela elemental.

En la mayoría de los casos, el muestreo se realizaba con una cadencia de aproximadamente seis semanas, es decir, mes y medio, por ajustarse a la metodología de análisis en el laboratorio; de esa forma podían realizarse cómodamente todas las tareas que implicaba el estudio: recogida de las muestras, traslado al laboratorio, secado y tamizado del suelo, así como la realización de los dos tipos de análisis. La excepción en la periodicidad de la toma de muestras tuvo lugar en el invernadero E en la primera campaña de estudio, en la que por tratarse de ensayos preliminares, los muestreos se alargaron más en el tiempo.

De los ensayos realizados para conocer la respuesta de la microbiota fúngica a la presencia de diferentes contenidos de agua en el suelo, se plantearon distintas variantes que respondían a la situación diferencial que se intentó provocar en la campaña de cultivo 2003/2004.

De la línea de cultivo seleccionada de cada parcela experimental, se eligieron tres plantas al azar, de las que se fue realizando el seguimiento en el transcurso del cultivo.

De esas **tres** plantas se muestrearon los veinte primeros centímetros (apartando los primeros cinco) de suelo en contacto con las raíces. A su vez se muestrearon **tres** puntos distintos de cada parcela experimental que correspondieron al muestreo de suelo seco comprendido entre dos líneas de cultivo y por último, se muestreó siempre **un** único punto de cada parcela experimental y que correspondía con el suelo humedecido (regado con una prolongación del ramal portagoteros con un gotero más). Se trató de un único punto porque el ensayo debía de ser compatible con las labores que habitualmente se le realizan al cultivo, y no se pretendía incordiar con tres mangueritas entre las líneas de plantas (Figura 33).

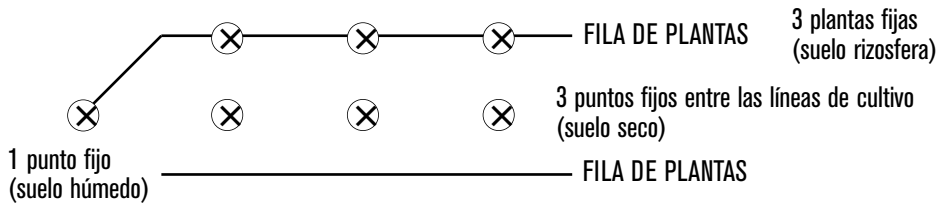


Figura 33. Esquema de la forma de muestrear el suelo de la rizoplana en el ensayo de influencia de la humedad dentro de las parcelas de una repetición de un determinado tratamiento.

Se estudiaron así tres situaciones diferenciales que se siguieron a lo largo del cultivo.

Respecto a la altura de las plantas, en cada fila control, se midieron, cada dos semanas, cinco plantas escogidas al azar, mediante sorteo aleatorio previo, haciendo un total de diez plantas por parcela elemental. Los controles comenzaron a las dos-tres semanas de la fecha de plantación y terminaron cuando el tamaño de las plantas dificultaba la medida, pues el sistema de entutorado no evita que los brotes laterales se inclinen sobre los hilos. Aunque se hiciera de esta forma, los gráficos representados, sólo recogen las fechas coincidentes con los muestreos de suelo, en un intento de poder averiguar si se da alguna relación entre el crecimiento de las plantas y la densidad fúngica presente en un momento dado.

En lo referente a la producción según las categorías comerciales, en cada recolección, se clasificó la cosecha de acuerdo con las categorías comerciales establecidas por las entidades colaboradoras para cada tipo de variedades (California y Lamuyo). La fruta de cada fila control, se pesó con una balanza electrónica de 0,01 kg de precisión. La producción comercial se obtuvo como suma de todas las categorías y la producción total, añadiendo el destrío a la comercial.

Cabe destacar que en los resultados expuestos, no están los referidos a los invernaderos Q y Q', puesto que los tratamientos ensayados en ellos, ya se habían evaluado en relación a los parámetros medidos en campañas anteriores a las que recoge este trabajo.

4.3.1. Planteamiento de los ensayos

Se analizaron suelos procedentes de invernaderos con diferentes orígenes y problemáticas diversas, ya fueran más o menos antiguos, con presencia o no de patógenos de suelo, con diferentes historiales de desinfección, en explotaciones comerciales o experimentales.

Se hizo el seguimiento en el suelo de los posibles cambios a nivel fúngico que tuvieran lugar, una vez desinfectados de múltiples formas, ya fueran por medios químicos o no (estos últimos especialmente interesantes de cara a un mejor conocimiento de lo que ocurre bajo criterios de agricultura ecológica).

Con intención de completar mejor la visión del efecto que los tratamientos realizados al suelo tienen como consecuencia sobre el mismo, se hacía necesario hacer referencia al efecto de dichas aplicaciones sobre los parámetros que fundamentalmente son los que determinan si un tratamiento es viable o no a la hora de valorar las alternativas al bromuro de metilo. Esto es, sobre el desarrollo vegetativo alcanzado por las plantas al final del cultivo y sobre la producción comercial obtenida.

De esta forma, todos los comentarios realizados respecto al desarrollo vegetativo, van referidos a la última medida efectuada, aunque eso no signifique que no pueda hacerse una valoración de lo que ocurre en las semanas anteriores.

En cuanto a la producción comercial, ésta se muestra en el trabajo tanto en producción comercial acumulada como en la producción comercial (no total, que incluiría el destrío) por categorías. En ocasiones, se hace referencia a la producción obtenida en la primera recolección, por el valor de las mismas.

Los ensayos siempre consistieron en diseños experimentales en bloques al azar con tres repeticiones por tratamiento, con la excepción de uno solo de los invernaderos, el llamado invernadero P, que contó solamente con dos repeticiones.

4.3.2. Localización y características de los invernaderos

Los invernaderos cuyos suelos fueron objeto de estudio para todos los casos planteados, se localizaron en el Campo de Cartagena y sur de la provincia de Alicante, tal y como se señala en la Figura 24, de los que ya fueron descritas sus características en el apartado 2.2.

4.3.3. Desinfección del suelo

Desinfectantes químicos

INVERNADERO H

El seguimiento de los cambios que tenían lugar en la microbiota fúngica del suelo se estudió en este invernadero, durante las campañas 2002/2003 y 2003/2004.

En la primera de ellas, la 2002/2003, se estudió la variación presente en el suelo de parcelas que habían sido desinfectadas con los tratamientos indicados en la Tabla H.1.b.

Tabla H.1.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2002/2003 en el invernadero H, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo, así como el fabricante de los mismos

Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis	Film ^A	Formulado Comercial
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
Telone C-35	1,3-Dicloropropeno:cloropicrina (50:50)	50 g·m ⁻²	PE	Telopic, Dow A groscience
Óx. propileno 600 l·ha ⁻¹	Óxido de propileno 600 l/ha	60 cm ³ ·m ⁻²	PE	Propozone, ABERCO
Cloropicrina 40 g·m ⁻²	Cloropicrina	40 g·m ⁻²	VIF	Chloropicrin, Dead Sea Bromide

^A VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

El bromuro de metilo se aplicó en fumigación en frío el 12/11/2002, y el resto de tratamientos, una semana después, el 19/11/2002, para retirar los plásticos a todas las parcelas el mismo día, el 10/12/2002, unas dos semanas antes del trasplante, que se realizó exactamente el 27/12/02 con la variedad Almudén. A su vez, el primer muestreo de la campaña se realizó el 13/01/2003, **dos semanas después del trasplante**, y un mes después de dar por finalizados los tratamientos de desinfección.

Los sucesivos muestreos para conocer la variación en la colonización del suelo próximo a las raíces por parte de los hongos fueron los que se indican a continuación: 13 de enero de 2003, 26 de febrero, 7 de abril, 19 de mayo, 30 de junio y 28 de julio del mismo año. En total, seis muestreos, coincidiendo el último de ellos con el día en que se finalizó el cultivo.

En la segunda campaña de cultivo estudiada, la 2003/2004, se analizaron los suelos de parcelas que habían sido desinfectadas con los productos que se reflejan en la Tabla H.2.b.

Esta vez, el bromuro de metilo se aplicó en fumigación en frío el 5/11/2003, dos días después que el resto de tratamientos. Para todos ellos, el plástico se retiró el 11/12/2003, unas tres semanas antes del trasplante, el 5/12/2004, que se realizó con la variedad Almudén, la misma que la campaña anterior. A su vez, el primer muestreo de la campaña se realizó el 12/01/2004, poco más de **un mes después del trasplante**, y un mes después de dar por finalizados los tratamientos de desinfección.

Tabla H.2.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2003/2004 en el invernadero H, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo, así como el formulado y fabricante de los mismos

Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis	Film ^A	Formulado Comercial
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
Telone C-35	1,3-Dicloropropeno: cloropicrina (50:50)	50 g·m ⁻²	PE	Telopic, Dow A groscience
Óx. Propileno	Óxido de propileno 600 l/ha ¹	60 cm ³ ·m ⁻²	PE	Propozone, ABERCO
Óx. Propileno	Óxido de propileno 800 l/ha ¹	80 cm ³ ·m ⁻²	PE	Propozone, ABERCO

^A PE = Polietileno, VIF = Film virtualmente impermeable.

Los muestreos que a continuación se detallan, se hicieron a la vez de las siguientes zonas: suelo humedecido de entre las líneas de cultivo, suelo seco entre las mismas y suelo próximo a las raíces de las plantas, realizándose en las siguientes fechas: 11 de febrero de 2004, 22 de marzo, 3 de mayo, 14 de junio, 26 de julio, y por último el 8 de septiembre, escasos días después de cortar el agua a la plantación, que se hizo una semana antes.

INVERNADERO P

Este invernadero, fue junto con el B, O, Q y Q', los que se estudiaron exclusivamente a lo largo de un ciclo de cultivo (en el caso del P, durante la 2002/2003) para conocer la variación ejercida en la microbiota fúngica, en este caso, tras la desinfección con productos químicos.

Tabla P.1.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2000/2003, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo, así como el formulado y fabricante de los mismos

Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis	Film ^A	Formulado Comercial
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	40 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
Telone C-35	1,3-Dicloropropeno: cloropicrina (50:50)	50 g·m ⁻²	PE	Telopic, Dow A groscience
Cloropicrina 50 g·m ⁻²	Cloropicrina (tricloronitrometano)	50 g·m ⁻²	PE	Chloropicrin, Dead Sea Bromide
Cloropicrina 30 g·m ⁻²	Cloropicrina (tricloronitrometano)	30 g·m ⁻²	VIF	Chloropicrin, Dead Sea Bromide
Óx. propileno 300 l·ha ⁻¹	Óxido de propileno	30 cm ³ ·m ⁻²	VIF	Propozone, ABERCO
Cloropicrina, 600 l·ha ⁻¹	Óxido de propileno	60 cm ³ ·m ⁻²	PE	Propozone, ABERCO
DMDS 80	Dimetildisulfito	80 g·m ⁻²	VIF	DMDS, Atofina Chemicals
DMDS 60	Dimetildisulfito	60 g·m ⁻²	VIF	DMDS, Atofina Chemicals

^A VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

Los tratamientos que se aplicaron al suelo, vienen reflejados en la Tabla P.1.b., donde Telone C-35 se aplicó el 25/10/2002, la cloropicrina el 29/10/2002, el dimetildisulfido y el óxido de propileno el 8/11/2002 y el bromuro de metilo, el 11/10/2002, retirándose en todos los casos los plásticos, el 20/11/2002.

El trasplante se realizó el 27/12/2002 y el primer muestreo, el 13/01/2003, unos **quince días después**.

INVERNADERO B

La campaña objeto de estudio, fue la 2003/2004, en la que se realizaron los siguientes tratamientos en el suelo:

- Bromuro de metilo con cloropicrina en la formulación que venía siendo habitual en el Campo de Cartagena, 98:2, a la dosis de $60 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ con plástico VIF.
- Cloropicrina a $50 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ con plástico de PE.
- Telone C-35 a $50 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ con plástico de PE.
- Aplicación de *Trichoderma* con las siguientes variantes:
 - a) Aplicación en el sustrato del semillero en el momento de la siembra de la semilla.
 - b) Aplicación al suelo en dos momentos:
 - 7 días antes de la plantación.
 - 7 días después de la plantación.
 - c) Apartado a)+ aplicación de estimulante SPA 00.
 - d) Apartado b)+ aplicación de estimulante FERTILIZER.
 - e) Óxido de propileno a $600 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$ con plástico de PE y aplicación de *Trichoderma* (IBF001).

Para el caso de los apartados c) y d), se repitieron las aplicaciones de los estimulantes los días 11/02/2004, 28/04, 19/05, 08/06, 29/06, y 15/07/2004.

Antes de la aplicación en campo, el formulado se puso a macerar durante 48 horas, a razón de 325 g de formulado por 250 ml de agua destilada. Cada vaso se enrasó a 500 ml con agua de riego.

A continuación, el contenido de cada bote se diluyó en agua de riego hasta 6500 ml de caldo, aplicándose 100 ml de caldo a cada planta, agitando previamente con una varilla. Después, se regaba durante 15 minutos.

El bromuro de metilo se aplicó el 5/12/2003 y los demás productos químicos, el 7/12/2003, manteniéndose el suelo cubierto con el plástico hasta el 16/12/2003.

La plantación, con la variedad Orlando (tipo California rojo) se llevó a cabo el 29/12/2003, muestreándose por primera vez el suelo, **un mes después**, el 4/02/2004.

Las muestras de suelo se tomaron los días 4 de febrero, 17 de marzo, 28 de abril, 8 de junio y el último, el día 21/07/2004.

Desinfectantes no químicos

INVERNADERO CH

Se estudió la variación de la microbiota fúngica del suelo a lo largo de las campañas de cultivo 2002/2003 y 2003/2004.

Los tratamientos que se realizaron en la primera campaña de seguimiento (2002/2003) fueron los indicados en la Tabla CH.1.b. Cabe recordar, que la campaña anterior, el invernadero se desinfectó mediante procedimientos no químicos.

Tabla Ch.1.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2002/2003 en el invernadero CH, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo y formulado comercial

Tratamiento ^A	Producto o enmienda	Dosis	Film ^B	Formulado Comercial
Testigo				
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B 1 ^{er} año+S	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	7 kg·m ⁻² 2 kg·m ⁻²	PE	
B 1 ^{er} año+S+ +plantas	Estiércol fresco de oveja + gallinaza + plantas pimiento	7 kg·m ⁻² ; 2 kg·m ⁻²	PE	
B 1 ^{er} año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	7 kg·m ⁻² 2 kg·m ⁻²	-	

^A BM = Bromuro de metilo, S: Solarización. ^B VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

La aplicación de enmiendas orgánicas, cubiertas o no con plástico, se realizó el 20/08/2002, retirándose el plástico, dos meses y medio después, el 4/11/2002. El bromuro de metilo fue aplicado el 12/11/2002, retirándose el plástico dos semanas después, el 26/11/2002 muestreándose por primera vez el suelo, diez días más tarde, el 5/12/2002. A su vez, el trasplante se efectuó **dos semanas después**, el 17/12/2002 con la variedad Almodén.

Se tomaron muestras de suelo en las siguientes fechas: 5 de diciembre de 2002, antes de realizar el trasplante, el 27 de enero de 2003, el 10 de marzo, el

23 de abril, el 2 de junio y el 28 de julio del mismo año, coincidiendo con la finalización del cultivo.

En la campaña siguiente, la 2003/2004, se tomaron muestras de suelo de las parcelas que habían sido tratadas, continuando con el mismo sistema de desinfección (Tabla CH.2.b). Como se indicó al comienzo de este apartado 4, en esta campaña se realizaron en las mismas fechas los muestreos de cada zona, ya fuera húmeda o no.

Tabla Ch.2.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2003/2004 en el invernadero CH, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo y fabricante de los mismos

Tratamiento ^{AB}	Producto o enmienda	Dosis	Film ^C	Formulado Comercial
Testigo				
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B 2º año+S	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² 2 kg·m ⁻²	PE	
B 2º año+S+ +plantas	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² : 2 kg·m ⁻²	PE	
B 2º año+ +plantas	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² : 2 kg·m ⁻²	-	
B 1º año+S +plantas	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	7 kg·m ⁻² : 2 kg·m ⁻²	PE	

^A B = Biofumigación. ^A S: Solarización. ^C VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

Las biosolarizaciones comenzaron el 18/08/2003, para darse por finalizadas algo más de tres meses después. El bromuro de metilo fue aplicado el 5/11/2003 y se retiró el plástico una semana más tarde. Pasado un mes, el 12/12/2003, se procedió al trasplante que volvió a ser con la variedad Almudén y el primer muestreo de suelo, **dos meses después** (11/02/2004).

Los muestreos se realizaron en las siguientes fechas: 11 de febrero de 2004, 22 de marzo, 14 de mayo, 14 de junio y 26 de julio, tres días antes de que finalizara el cultivo.

INVERNADERO E

Los suelos de este invernadero, se analizaron a lo largo de tres campañas consecutivas: 2001/2002, 2002/2003 y 2003/2004. Ésta última con las consideraciones anteriormente mencionadas, respecto a los diferentes muestreos.

En la Tabla E.1.b. se indican los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2001/2002, en la que se trasplantó la variedad Ribera el 9/1/2002 y se dio por finalizado el ensayo el 9/8/02. A las parcelas que actuaron de control se les aplicó una enmienda de crisantemo al suelo.

Tabla E.1.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2001/2002 en el invernadero E, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo, así como el formula comercial

Tratamiento ^A	Producto o enmienda	Dosis	Film ^B	Formulado Comercial
Biofumigación	Crisantemo + gallinaza	20 kg·m ⁻² ; 2 kg·m ⁻²		
Testigo + cris.	Crisantemo	20 kg/parcela		
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B+S 2º año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² ; 2,5 kg·m ⁻²	PE	
B+S 3º año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	4 kg·m ⁻² ; 2 kg·m ⁻²	PE	
B+S 4º año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	3 kg·m ⁻² ; 1,5 kg·m ⁻²	PE	

^A B+S = Biosolarización. ^B VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

El proceso de biosolarización para las distintas parcelas y de biofumigación, comenzó el 28/08/2001, para permanecer el suelo cubierto con plástico (en su caso), hasta dos meses después. El bromuro de metilo fue aplicado el 8/11/2001, y tras ocho días, se retiró el plástico. El primer muestreo de la campaña se llevó a cabo el 3/12/2001, poco más de **un mes antes** del trasplante, ya indicado antes.

Se realizó el muestreo de suelo en las siguientes fechas: 3 de diciembre de 2001, 18 de marzo de 2002, 17 de junio y 12 de agosto.

En la campaña 2002/2003, se muestrearon suelos de parcelas que habían sido tratadas como continuación a las desarrolladas con anterioridad (Tabla E.2.b.). El invernadero volvió a plantarse con la variedad Ribera el día 17/12/2002.

Esta vez, las biosolarizaciones comenzaron el 14/08/2002, permaneciendo el suelo cubierto de plástico hasta el 4/11/2002. El bromuro de metilo se aplicó el 12/11/2002 y el plástico se retiró tras cuatro días de permanencia en el suelo. Tal y como se ha detallado antes, se deduce que el primer muestreo se realizó aproximadamente **dos semanas antes** de la plantación.

Tabla E.2.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2002/2003 en el invernadero E, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo, así como el formula comercial

Tratamiento ^a	Producto o enmienda	Dosis	Film ^b	Formulado Comercial
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B+S 1 ^{er} año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	7 kg·m ⁻² ; 2,5 kg·m ⁻²	PE	
B+S 2 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	4 kg·m ⁻² ; 2 kg·m ⁻²	PE	
B+S 3 ^{er} año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	3 kg·m ⁻² ; 1,5 kg·m ⁻²	PE	
B+S 4 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	2 kg·m ⁻² ; 0,5 kg·m ⁻²	PE	

^a B+S = Biosolarización. ^b VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

Los muestreos se realizaron en los siguientes días: 5 de diciembre de 2002, 27 de enero de 2003, 10 de marzo, 23 de abril, 2 de junio, 18 de julio y 12 de agosto, días después de dar por finalizada la campaña.

La tercera campaña, fue la 2003/2004, en la que se compararon los efectos de la biosolarización reiterada con los del bromuro de metilo y con suelo no desinfectado (Tabla E.3.b.). Se trasplantó la variedad Ribera el 5/01/04, y se dio por finalizado el cultivo el 6/08/04. Las biosolarizaciones comenzaron el 12/08/2003 y se dieron por concluidas el 3/11/2003, mientras que el bromuro de metilo se aplicó el 5/11/2003, retirándose el plástico el 19/11/2003. En este caso, el primer muestreo se realizó **un mes después** de la plantación.

Tabla E.3.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2003/2004 en el invernadero E, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo, así como el fabricante de los mismos

Tratamiento ^a	Producto o enmienda	Dosis	Film ^b	Formulado Comercial
Testigo				
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	30 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
B+S 2 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	5 kg·m ⁻² ; 2 kg·m ⁻²	PE	
B+S 4 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	3 kg·m ⁻² ; 1,5 kg·m ⁻²	PE	
B+S 5 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	2 kg·m ⁻² ; 0,5 kg·m ⁻²	PE	
B+S 6 ^o año	Estiércol fresco de oveja + gallinaza	2 kg·m ⁻² ; 0,5 kg·m ⁻²	PE	

^a B+S = Biosolarización. ^b VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno.

Se tomaron muestras los días 11 de febrero de 2004, 22 de marzo, 14 de mayo, 14 de junio y 26 de julio.

INVERNADERO O

Este fue uno de los invernaderos que se siguieron únicamente para conocer la variación de la población fúngica presente a lo largo de la campaña de cultivo, que correspondió a la 2003/2004. En ella se realizaron dos aplicaciones con *Trichoderma*, una en el semillero que se realizó el 19/12/2003, y la otra, el 4/01/2004, después de trasplantar el 23/12/2003 con la variedad Quito.

Se comparó el comportamiento de la microbiota fúngica de las muestras de suelo correspondientes a las siguientes aplicaciones a las plantas:

La aplicación de *Trichoderma* a las plantas, se realizó en el semillero el día 19/12/2003 y las otras, días después (el 04/01/2003) de realizar el trasplante (el 14/12/2003) en el invernadero. Se entiende entonces, que para conocer el efecto de la aplicación de este tipo de formulado comercial, el primer muestreo de suelo, se realizara el 14/01/2004, **un mes después del trasplante**, y diez días después de la aplicación de *Trichoderma* al terreno de asiento. El muestreo por tanto, se hizo sobre suelo cultivado, de las inmediaciones de la planta para cerciorarse de la colonización de dicho hongo. Los tratamientos se reflejan en la Tabla O.1.b.

Tabla O.1.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2003/2004 ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas y formulado de los mismos

Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis	Formulado Comercial
Testigo			
B+S+ <i>Trichoderma</i> semillero	<i>Trichoderma harzianum</i> 1 x 10 ⁹ conidias/g	2,5 g·m ⁻² en 10 l	IBF-001, Isagro
B+S+ <i>Trichoderma</i> trasplante	<i>Trichoderma harzianum</i> 1 x 10 ⁹ conidias/g	2,5 g·m ⁻² en 10 l	IBF-001, Isagro

Los seis muestreos que se realizaron a lo largo del transcurso de la campaña de cultivo, fueron los correspondientes al: 14 de enero de 2004, 25 de febrero, 7 de abril, 19 de mayo, 1 de julio y 11 de agosto.

INVERNADERO Q

Los suelos de este invernadero fueron muestreados durante la campaña de cultivo 2001/2002 con el objeto de conocer los cambios producidos a nivel microbiológico, cuando las plantas son estimuladas con agentes de biocontrol en el semillero y en el trasplante.

Concretamente, los tratamientos evaluados durante la campaña de cultivo, fueron lo que se detallan en la Tabla Q.1.b.

Tabla Q.1.b. Características de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2001/2002 en el invernadero Q, ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo y formulado comercial de los mismos

Tratamiento ^A	Producto o enmienda	Dosis	Film ^A	Formulado Comercial ^B
Solarización + Metam sodio	Meta sodio (N-metildiocarbonato de sodio)	150 g·m ⁻²	PE	Metam Sodio 50, Taminco
Solarización + <i>Trichoderma</i> 1 semillero	<i>Trichoderma harzianum</i> 1,5x10 ⁸ conidias/g	0,75 g·l ⁻²	PE	Trianium G, Koppert
Solarización + <i>Trichoderma</i> 2 trasplante	<i>Trichoderma harzianum</i> 6x10 ⁸ conidias/g	7,5 g·m ⁻² en 10 l	PE	Trianium P, Koppert
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	40 g·m ⁻²	VIF	Metabrom, Eurobrom

^A VIF = PE = Polietileno, Film virtualmente impermeable. ^B G = Granulado, P = Polvo.

La primera semana de diciembre de 2001 se plantó la variedad Herminio, y **casi dos meses después**, se muestreó el suelo por primera vez, el 25/01/2002.

Se realizaron seis muestreos a lo largo de la campaña de cultivo en los siguientes días: 25 de enero de 2002, 4 de marzo, 4 de abril, 2 de mayo, 30 de mayo y 11 de julio, dándose por finalizado el ensayo la primera semana de agosto de 2002.

INVERNADERO Q'

En la campaña 2002/2003, se optó por comparar con diferentes enmiendas orgánicas así como con dos modalidades de aplicación del metam sodio.

La campaña anterior al estudio, se basó en la evaluación de diferentes alternativas al bromuro de metilo, que consistieron en la combinación de metam sodio con otros productos y/o procesos.

En la Tabla Q.1.b., se reflejan los tratamientos realizados al suelo a lo largo de la campaña en la que se realizaron los sucesivos análisis de suelo.

El bromuro de metilo fue aplicado mediante fumigación en frío el 20/09/2002, permaneciendo el plástico en el suelo hasta un mes después. Unas dos semanas más tarde, exactamente el 07/10/2002, se aplicaron los demás tratamientos y en-

miendas, dándose por finalizado el proceso para estos casos el 27/11/2002, un mes y medio después.

La fecha de plantación fue la primera semana de diciembre de 2002, y la variedad plantada, Sprinter, transcurriendo **mes y medio** entre el trasplante y la fecha del primer muestreo de suelo: el 13/01/2003.

Tabla Q'1.b. Detalle de los tratamientos realizados al inicio de la campaña 2000/2003, en el invernadero Q', ingredientes activos de los formulados, dosis aplicadas, film plástico empleado para cubrir el suelo, así como el producto formulado de los mismos

Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis	Film ^A	Formulado Comercial ^B
BM (98:2)	Bromuro de metilo: cloropicrina (98:2)	40 g·m ⁻²	VIF	Metabrom de Eurobrom
Biosugar	Derivado de la caña de azúcar	0,04 l·m ⁻²	PE	
Pasto del Sudán	Pasto de sorgo: <i>Sorghum sudanense</i>	2 kg·m ⁻²	PE	
Metam Sodio	Metam sodio (N-metildiocarbonato de sodio)	150 g·m ⁻²	PE	METAM Sodio 50, Taminco
<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma harzianum</i> 6x10 ⁹ conidias/g	7,5 g·m ⁻² en 10l	PE	METAM Sodio 50, Taminco
Metam Sodio aplicado en frío	Metam sodio (N-metildiocarbonato de sodio)	150 g·m ⁻²	PE	METAM Sodio 50, Taminco

^A VIF = Film virtualmente impermeable, PE = Polietileno. ^B P = Polvo.

De nuevo, seis fueron los muestreos que se realizaron esta vez: 13 de enero de 2003, 26 de febrero, 9 de abril, 21 de mayo, 2 de julio y 30 de julio. El ensayo se dio por finalizado la primera semana de agosto de 2003.

4.3.4. EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

A continuación, se expone el planteamiento que se realizó para la interpretación de los resultados relacionados con la variación de la densidad fúngica a lo largo del cultivo tras realizar la desinfección con los sucesivos muestreos efectuados. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para los casos que a continuación se detallan.

- Para cada fecha correspondiente a cada uno de los muestreos realizados, se analizó el comportamiento de cada desinfectante empleado sobre cada uno de los géneros fúngicos y sobre el total. Los dos factores estudiados fueron el tratamiento y la repetición como variables independientes, y la variable dependiente, el género o especie analizada.
- Para el caso de las poblaciones fusáricas en particular, se realizó el mismo análisis para cada una de las especies de *Fusarium* aisladas (y

para la densidad fusárica total) que el descrito con anterioridad para la microbiota fúngica total.

- Para normalizar los datos de todos los análisis, se empleó la transformación $\sqrt{(x+0,5)}$, como ya hicieran RODRÍGUEZ MOLINA *et al.* (2001), por ser la que mayor información proporcionaba para la interpretación de los resultados. El método empleado para la comparación de las medias fue el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) al 95%.
- Para comparar el desarrollo vegetativo alcanzado con cada uno de los tratamientos, se realizó el análisis de la varianza (factores: tratamientos y bloques), transformados mediante la expresión $\log_{10}(x)$ y la comparación de las medias de los tratamientos aplicando el test LSD al 95% para cada invernadero y campaña.
- Las producciones se expresaron en $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ y se analizaron las diferencias entre tratamientos, tanto para la producción comercial acumulada en cada fecha, como para las cifras finales de cada categoría, es decir, los aspectos cuantitativos y cualitativos de la producción. Para la comparación de los datos se realizó el análisis de la varianza y el test LSD al 95% para la comparación de las medias, transformando los datos mediante la expresión $\log_{10}(x+1)$.

4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

INVERNADERO H

1. EFECTO DEL HUMEDECIMIENTO DEL SUELO DURANTE EL CULTIVO SOBRE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA AISLADA EN SUELOS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS

De la bibliografía revisada, tan sólo se ha encontrado un trabajo similar (TELLO y LACASA, 1990) en el que se analiza la influencia de la humedad y de la zona de acción de las raíces de la planta en cuanto a su relación con la multiplicación de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de tomate.

La escasez de información acerca del estudio de las poblaciones fúngicas en el suelo en los cultivos de pimiento alentó al estudio también de las mismas bajo distintas condiciones de humedad y nutrientes disponibles en el suelo.

Al principio de cultivo, en el primero de los muestreos, destaca el hecho de que en los suelos procedentes de la zona no humedecida entre las líneas de cultivo, se registraron las mayores densidades de *Aspergillus* y *Fusarium* respecto a

las otras alternativas (suelo cercano a las raíces y suelo humedecido) en todos los tratamientos analizados (Tabla 4.H.1.).

Los análisis de las diferentes alternativas estudiadas revelaron que en relación a la microbiota total aislada en los suelos desinfectados con 1,3- Dic+pic, los mayores niveles de inóculo se dieron en la zona próxima a las raíces o humedecida. Para el caso del óxido de propileno, fue la zona situada entre las líneas de cultivo y para el bromuro de metilo, la humedecida intencionadamente.

Tabla 4.H.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero H a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35 50			Óx. Propileno 600		
		Raíces	Seco	Húmedo	Raíces	Seco	Húmedo
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	2,46ns	2,23ns	2,10ns	1,86a	7,27b	11,17b
	22/03/04	1,10a	1,27a	4,27b	14,30b	3,53a	5,37a
	03/05/04	3,23ns	2,37ns	2,53ns	1,36a	4,20b	5,43b
	14/06/04	4,13a	4,83a	6,53b	0,73a	12,23c	4,60b
	26/07/04	17,40b	1,07a	3,70a	3,36a	7,07c	6,43b
	08/09/04	7,76ab	6,17a	10,07b	0,56a	17,03c	5,50b
	<i>F. solani</i>	11/02/04	0,00a	0,37b	0,00a	0,06ns	0,03ns
22/03/04		0,40a	0,80ab	1,83b	2,50b	0,97a	1,40ab
03/05/04		0,00a	1,53b	0,43a	0,20a	3,13b	0,17a
14/06/04		4,03c	1,43a	2,20b	0,06a	3,93b	4,53b
26/07/04		4,40b	0,30a	0,00a	0,33a	1,77b	5,37c
08/09/04		1,56a	2,33a	4,33b	4,56a	5,00ab	6,07b
<i>Rhizopus</i>		11/02/04	0,00a	0,33b	0,00a	0,13b	0,07ab
	22/03/04	2,53b	0,40a	0,10a	0,80b	0,20a	0,33a
	03/05/04	0,20a	2,07b	0,00a	0,00a	0,20a	0,87b
	14/06/04	0,33ns	0,13ns	0,10ns	0,10a	1,07b	0,40a
	26/07/04	0,00a	0,60b	0,00a	1,06b	0,00a	0,97b
	08/09/04	1,06b	1,07b	0,37a	0,00a	1,13b	0,77b
	<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,60a	5,83b	0,30a	0,10a	0,70b
22/03/04		0,10a	0,63b	0,00a	2,03b	0,03a	0,20a
03/05/04		0,00ns	0,00ns	0,03ns	0,06a	1,07b	0,13a
14/06/04		0,13ns	0,03ns	0,00ns	0,06a	0,30b	0,00a
26/07/04		0,00a	1,47b	0,00a	0,00a	2,00b	0,17a
08/09/04		0,00a	0,00a	0,90b	0,70ns	0,17ns	0,57ns
Total		11/02/04	3,06a	8,77b	2,40a	2,16a	8,07b
	22/03/04	4,13a	3,10a	6,20b	19,63c	4,73a	7,30b
	03/05/04	3,43a	5,97b	3,00a	1,63a	8,60c	6,60b
	14/06/04	8,63b	6,43a	8,83b	0,96a	17,53c	9,53b
	26/07/04	21,80b	3,43a	3,70a	4,76a	10,83b	12,93b
	08/09/04	10,40a	9,57a	15,67b	5,83a	23,33c	12,90b

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.H.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero H a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Óx. Propileno 800			BM30		
		Raíces	Seco	Húmedo	Raíces	Seco	Húmedo
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	7,76b	24,63c	0,37a	0,60a	27,10c	2,63b
	22/03/04	7,40a	13,70b	7,53ab	28,93b	9,23a	7,47a
	03/05/04	2,40a	12,67c	6,87b	2,76b	1,47a	8,07c
	14/06/04	17,53b	14,73ab	6,00a	5,73b	5,60a	4,47a
	26/07/04	70,23b	2,13a	4,80a	7,50ns	5,37ns	9,87ns
	08/09/04	9,20a	14,77b	20,33b	5,03a	4,93a	14,13b
	<i>F. solani</i>	11/02/04	0,76ns	0,47ns	0,37ns	0,76a	10,60c
22/03/04	0,26a	3,03b	0,70a	2,06b	0,20a	3,10c	
03/05/04	0,00a	1,40b	0,00a	0,00a	0,20a	0,90b	
14/06/04	0,06a	2,73b	2,67b	1,46a	2,87b	2,03a	
26/07/04	0,03a	0,00a	3,17b	0,43a	0,10a	1,97b	
08/09/04	1,70a	4,10b	4,13b	6,76b	0,00a	0,00a	
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	0,03ns	0,23ns	0,00ns	0,03ns	0,07ns	0,00ns
	22/03/04	0,06a	0,17a	0,70b	0,36ns	0,10ns	0,17ns
	03/05/04	0,00a	0,07a	0,70b	0,00a	0,17a	0,43b
	14/06/04	0,23ns	0,23ns	0,33ns	0,26b	0,20ab	0,00a
	26/07/04	0,16a	0,00a	1,23b	0,06a	0,00a	0,70b
	08/09/04	2,20b	0,23a	0,73a	0,70b	0,07a	0,20a
	<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,30ns	0,17ns	0,37ns	0,00a	0,43a
22/03/04		27,33b	1,03a	1,20a	2,23a	8,87b	0,73a
03/05/04		0,03a	31,23b	0,07a	0,06ns	0,07ns	0,23ns
14/06/04		0,03a	0,57b	0,63b	0,33ab	3,73b	0,23a
26/07/04		1,26b	2,07c	0,17a	1,60a	2,03ab	5,53b
08/09/04		0,50ns	0,90ns	0,90ns	0,00a	0,10a	0,47b
Total		11/02/04	8,86b	25,50c	1,10a	1,40a	38,20c
	22/03/04	35,06b	17,93a	10,13a	33,60b	18,40a	11,47a
	03/05/04	2,43a	45,37c	7,63b	2,83a	1,90a	9,63b
	14/06/04	17,86b	18,27b	9,63a	7,80b	12,40b	6,73a
	26/07/04	71,70b	4,20a	9,37a	9,60a	7,50a	18,07b
	08/09/04	13,60a	20,00b	26,10b	12,50b	5,10a	14,80b

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Resultados de tendencia similar fueron los que se obtuvieron para el caso concreto de la variación de la población fusárica. Los suelos presentaron en general, densidades de población de *Fusarium* elevadas (Tabla 4.H.2.), donde la especie claramente predominante en los suelos fue *F. solani*, viéndose desplazada en algunos casos puntuales por *F. oxysporum*. Las parcelas en donde se aplicó 1,3 dicloropropeno+cloropicrina para desinfectar, mostraron diferencias significativas entre las variantes estudiadas: así se comprueba que el suelo rizosférico fue el que mayor densidad de *Fusarium* presentó respecto al suelo de entre las

líneas de cultivo humedecido y sin humedecer. En las parcelas desinfectadas con el óxido de propileno tanto a la dosis de 600 como a la de 800 l·ha⁻¹ ocurrió prácticamente lo mismo que con el Telone C-35, con la particularidad de que a menor dosis, mayor densidad de *Fusarium*. Las densidades aumentaron conforme avanzaba el cultivo, especialmente con el comienzo de la primavera. Aunque las parcelas bromuradas soportaran mayor número de poblaciones fusáricas cuando se humedecía el suelo, la respuesta no plasmó una gran multiplicación de los *Fusaria*, como tampoco ocurrió en los demás tratamientos. A la misma observación llegaron TELLO y LACASA (1990) al analizar los *Fusaria* presentes en suelos incultos, más o menos cercanos a zonas cultivadas donde compararon el análisis de suelos que habían padecido una sequía de catorce meses con el muestreo tras unas lluvias caídas y comprobaron que no aconteció prácticamente ningún aumento de las poblaciones.

Tabla 4.H.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero H a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35 50			Óx. Propileno 600		
		Raíces	Seco	Húmedo	Raíces	Seco	Húmedo
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	9,55b	0,00a	4,70ab	12,55ns	0,00ns	16,32ns
	22/03/04	0,00a	6,05a	38,77b	4,64a	5,53a	446,95b
	03/05/04	2,79a	1,10a	66,66b	80,98b	12,34a	606,60c
	14/06/04	0,74ns	0,00ns	5,79ns	4,65ab	0,00a	20,17b
	26/07/04	4,92ns	2,80ns	3,44ns	72,04b	5,48a	108,77b
	08/09/04	4,57ns	0,00ns	3,10ns	77,96b	1,10a	17,39ab
	Total						
<i>F. solani</i>	11/02/04	331,72b	96,02a	151,33ab	25,16ns	19,89ns	29,52ns
	22/03/04	396,58b	679,53c	38,77a	323,09a	1519,35b	446,95a
	03/05/04	590,59b	757,15b	66,66a	1145,45b	2914,55c	606,60a
	14/06/04	694,06ns	697,9ns	840,44ns	2079,19ns	2372,11ns	2563,74ns
	26/07/04	2480,88b	514,19a	654,63a	3850,03c	1279,92a	2177,60b
	08/09/04	997,17b	429,43a	516,37b	3362,98c	2285,15b	1218,17a
	Total						
<i>F. roseum</i>	11/02/04	2,51ns	0,00ns	0,00ns	5,52ns	5,57ns	15,17ns
	22/03/04	0,00ns	1,52ns	1,38ns	0,00ns	0,00ns	2,46ns
	03/05/04	7,57ns	1,05ns	0,00ns	24,46b	2,17a	2,67a
	14/06/04	11,97b	0,00a	0,00a	5,12ns	0,00ns	5,08ns
	26/07/04	0,00ns	0,00ns	0,00ns	4,42ns	0,00ns	2,40ns
	08/09/04	5,10b	0,00a	0,00a	48,69b	7,06a	1,56a
	Total						
Total	11/02/04	343,79b	96,02a	156,03ab	43,25ns	25,46ns	61,01ns
	22/03/04	396,58b	687,11c	78,93a	327,73a	1524,89c	896,36b
	03/05/04	600,96ab	759,30b	133,32a	1250,90a	2929,06b	1215,88a
	14/06/04	706,79ns	697,9ns	846,23ns	2088,97ns	2372,11ns	2589,00ns
	26/07/04	2485,80b	517,00a	658,07a	3926,51c	1285,41a	2288,78b
	08/09/04	1006,84b	429,43a	519,48a	3489,64c	2293,31b	1237,13a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.H.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero H a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Óx. Propileno 800			BM 30		
		Raíces	Seco	Húmedo	Raíces	Seco	Húmedo
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	2,62a	0,00a	23,44b	3,09a	0,00a	15,21b
	22/03/04	0,99a	2,05a	121,39b	0,00ns	0,00ns	1,64ns
	03/05/04	26,04a	31,70a	375,86b	2,32ns	10,97ns	15,06ns
	14/06/04	70,52b	4,08a	2,75a	6,83ab	0,00a	11,55b
	26/07/04	14,15a	4,45a	45,65b	89,45b	0,00a	21,74b
	08/09/04	12,47ns	9,34ns	1,93ns	5,89ns	0,00ns	9,34ns
	<i>F. solani</i>	11/02/04	0,00a	0,00a	22,45b	12,72ns	9,15ns
22/03/04		63,48a	536,13	47,44	139,28a	240,70a	430,27b
03/05/04		542,28a	1434,52b	375,19a	796,48b	1522,13b	54,54a
14/06/04		1640,97c	912,19b	424,00a	914,34a	795,03a	1787,15b
26/07/04		3223,56c	495,46a	1915,56b	2479,87b	71,69a	1780,37b
08/09/04		221,19a	1465,29b	1737,09b	790,05b	397,94a	1181,21b
<i>F. roseum</i>		11/02/04	23,35ns	80,51ns	44,05ns	11,06ns	27,75ns
	22/03/04	0,00ns	0,00ns	3,86ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns
	03/05/04	3,44ns	2,72ns	19,08ns	0,00ns	5,17ns	3,65ns
	14/06/04	5,74ns	0,00ns	0,00ns	10,61ab	0,00a	54,03b
	26/07/04	7,21a	0,00a	16,26b	28,97b	0,00a	26,33b
	08/09/04	4,56ns	1,47ns	8,25ns	4,21a	8,13a	68,71b
	Total	11/02/04	25,97a	80,51ab	89,95b	26,89ns	36,91ns
22/03/04		64,47a	538,19b	172,70a	139,28a	240,70a	431,92b
03/05/04		571,77a	1468,94b	770,14a	798,80b	1538,28b	73,25a
14/06/04		1717,25c	916,27b	426,75a	931,78a	795,03a	1852,74b
26/07/04		3244,92c	499,91a	1977,49b	2598,30c	71,69a	1828,45b
08/09/04		238,22a	1476,12b	1747,29b	800,16b	406,07a	1259,27c

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tal y como se muestran las densidades desarrolladas en cada caso, no se pueden ver diferencias tan elocuentes como las encontradas por BAO *et al.* (2000) cuando analizaron los *Fusaria* presentes en el suelo colonizado por las raíces de tomate y en el suelo alejado de las mismas. Encontró diferencias del orden de diez veces más de propágulos por gramo de suelo seco en el suelo en contacto con las raíces.

Densidades fúngicas en suelo seco

Microbiota total

Con un comportamiento similar al del bromuro, Telone C-35 fue capaz de controlar la proliferación de hongos presentes hasta el final del cultivo en las zonas si-

tuadas entre las líneas de cultivo (Gráfico H.2). *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp., fueron los géneros que se aislaron en su mayoría (Tabla 4.H.3).

Tabla 4.H.3. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero H en las zonas situadas entre las dos líneas de cultivo y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35	%	OP 600	%	OP 800	%	BM	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	2,23a	25,48	7,26b	90,08	24,63c	96,60	27,10d	70,94
	22/03/04	1,26a	40,86	3,53b	74,65	13,70c	76,39	9,23c	50,18
	14/05/04	2,36a	39,66	4,20b	48,84	12,66c	27,92	1,46a	77,19
	14/06/04	4,83a	75,13	12,23b	69,77	14,73b	80,66	5,60a	45,16
	26/07/04	1,06a	31,07	7,06c	65,23	2,13a	50,79	5,36b	71,56
	08/09/04	6,16a	64,46	17,03b	73,00	14,76b	73,83	4,93a	96,73
	<i>F. solani</i>	11/02/04	0,36a	4,18	0,03a	0,41	0,46a	1,83	10,60b
22/03/04		0,80ab	25,81	0,96b	20,42	3,03c	16,91	0,20a	1,09
14/05/04		1,53b	25,70	3,13c	36,43	1,40b	3,09	0,20a	10,53
14/06/04		1,43a	22,28	3,93b	22,43	2,73b	14,96	2,86b	23,12
26/07/04		0,30a	8,74	1,76b	16,31	0,00a	-	0,10a	1,33
08/09/04		2,33b	24,39	5,00c	21,43	4,10c	20,50	0,00a	-
<i>Rhizopus</i>		11/02/04	0,33ns	3,80	0,06ns	0,83	0,23ns	0,92	0,06ns
	22/03/04	0,40ns	12,90	0,20ns	4,23	0,16ns	0,93	0,10ns	0,54
	14/05/04	2,06b	34,64	0,20a	2,33	0,06a	0,15	0,16a	8,77
	14/06/04	0,13a	2,07	1,06b	6,08	0,23a	1,28	0,20a	1,61
	26/07/04	0,60b	17,48	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
	08/09/04	1,06b	11,15	1,13b	4,86	0,23a	1,17	0,06a	1,31
	<i>Penicillium</i>	11/02/04	5,83b	66,54	0,70a	8,68	0,16a	0,65	0,43a
22/03/04		0,63a	20,43	0,03a	0,70	1,03a	5,76	8,86b	48,19
14/05/04		0,00a	-	1,06a	12,40	31,23b	68,85	0,06a	3,51
14/06/04		0,03a	0,52	0,30a	1,71	0,56a	3,10	3,73b	30,11
26/07/04		1,46ns	42,72	2,00ns	18,46	2,06ns	49,21	2,03ns	27,11
08/09/04		0,00a	-	0,16a	0,71	0,90b	4,50	0,10a	1,96
Total		11/02/04	8,76a	100	8,07a	100	25,50b	100	38,20c
	22/03/04	3,10a	100	4,73a	100	17,93b	100	18,40b	100
	14/05/04	5,96ab	100	8,60b	100	45,37c	100	1,90a	100
	14/06/04	6,43a	100	17,53b	100	18,27a	100	12,40ab	100
	26/07/04	3,43a	100	10,83b	100	4,20a	100	7,50ab	100
	08/09/04	9,56b	100	23,33c	100	20,00c	100	5,10a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, OP: óxido de propileno.

Muy interesante resulta ver que en las parcelas cuyos suelos fueron bromurados, éstos soportaron gran densidad de hongos en los primeros muestreos de suelo, sobre todo en el primero tras el trasplante. Mayores aún fueron las que hubo presentes con el óxido de propileno a 800 l·ha⁻¹ a mitad del ciclo de cultivo.

Microbiota fusárica

Las parcelas desinfectadas con Telone C-35 soportaron menor densidad de hongos, algo parecido a lo que ocurrió con el bromuro de metilo. El óxido de propileno a 800 l·ha⁻¹ permitió una mayor colonización que a la dosis de 600 l·ha⁻¹ (Gráfico H.1.). La especie predominante fue de nuevo *F. solani*, con una proporción en todos los casos (salvo dos excepciones) superior al 90% (Tabla 4.H.4.).

Como se aprecia en los Gráficos H.1. y H.2., las parcelas desinfectadas con 1,3-Dic+pic (Telone C-35) fueron las que soportaron las menores densidades de hongos de todos los análisis efectuados en la zona sin humedad.

Tabla 4.H.4. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero H en las zonas situadas entre las dos líneas de cultivo y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco*

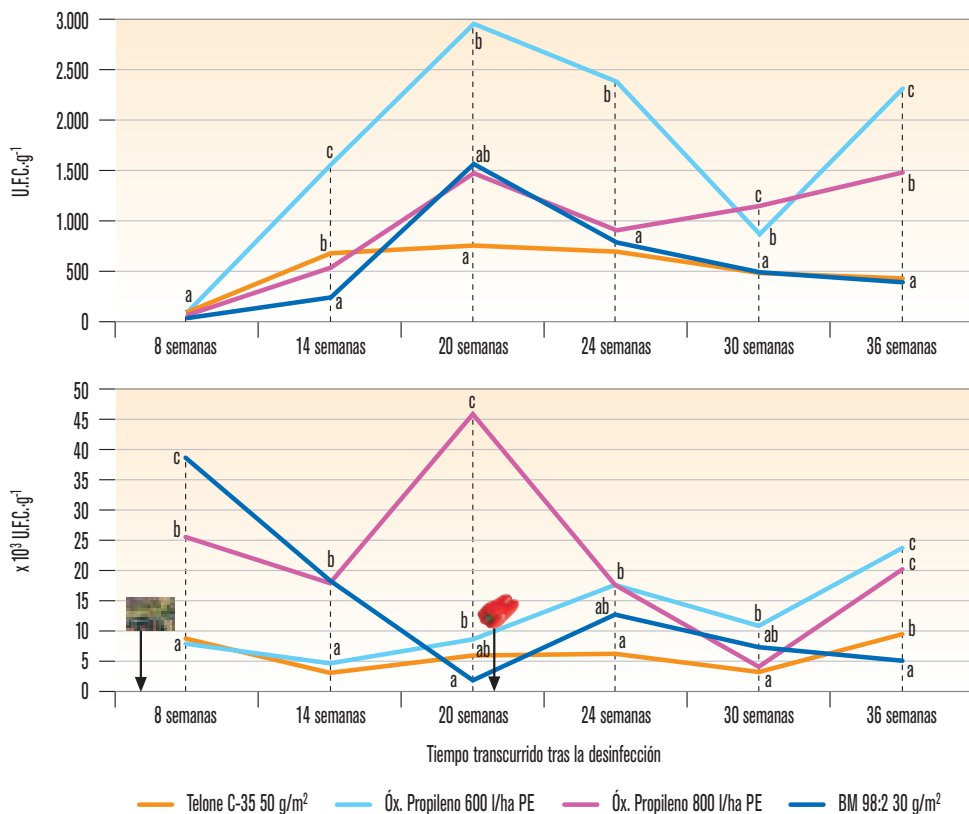
Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35	%	OP 600	%	OP 800	%	BM	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	22/03/04	6,05ns	0,88	5,53ns	0,36	2,05ns	0,38	0,00ns	-
	14/05/04	1,10a	0,15	12,34ab	0,42	31,70b	2,16	10,97ab	0,71
	14/06/04	0,00a	-	0,00a	-	4,08b	0,45	0,00a	-
	26/07/04	11,09ns	2,23	8,18ns	0,94	6,03ns	0,52	2,27ns	0,44
	08/09/04	0,00a	-	1,10a	0,05	9,34b	0,63	0,00a	-
	<i>F. solani</i>	11/02/04	96,02b	100	19,89ab	78,11	0,00a	-	9,15a
22/03/04		679,53b	98,90	1519,35c	99,64	536,13b	99,62	240,70a	100
14/05/04		757,15a	99,72	2914,55b	99,50	1434,52a	97,66	1522,13a	98,95
14/06/04		697,95a	100	2372,11b	100	912,19a	99,55	795,03a	100
26/07/04		476,26a	95,92	848,24b	97,31	1144,37b	98,91	506,56a	98,95
08/09/04		429,43a	100	2285,15c	99,64	1465,29b	99,27	397,94a	98,00
<i>F. roseum</i>		11/02/04	0,00a	-	5,57a	21,89	80,51b	100	27,75ab
	22/03/04	1,52ns	0,22	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	0,00
	14/05/04	1,05ns	0,14	2,17ns	0,07	2,72ns	0,19	5,17ns	0,34
	14/06/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	26/07/04	9,16ns	1,85	15,26ns	1,75	6,61ns	0,57	3,10ns	0,61
	08/09/04	0,00ns	-	7,06ns	0,31	1,47ns	0,10	8,13ns	2,00
	Total	11/02/04	96,02ns	100	25,46ns	100	80,51ns	100	36,91ns
22/03/04		687,11b	100	1524,89c	100	538,19b	100	240,70a	100
14/05/04		759,30a	100	2929,06b	100	1468,94ab	100	1538,28ab	100
14/06/04		697,95a	100	2372,11b	100	916,27a	100	795,03a	100
26/07/04		496,52a	100	871,69b	100	1157,03c	100	511,94a	100
08/09/04		429,43a	100	2293,31c	100	1476,12b	100	406,07a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, OP: óxido de propileno.

En relación a la microbiota fúngica total, el óxido de propileno a la mayor dosis ensayada, registró las mayores densidades, sin embargo la actitud del

mismo producto a $600 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$, proporcionó un control nada desdeñable. Respecto a la población fusárica, todos los tratamientos partieron de densidades de hongos prácticamente inapreciables, aunque en el siguiente muestreo, el óxido de propileno a $600 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$ se desmarcó como el tratamiento donde los *Fusaria* se multiplicaron mucho más que en los demás.

Gráficos H.1. y H.2. Comparación de la densidad total de especies *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero H en las zonas situadas entre las líneas de cultivo a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C. $\cdot\text{g}^{-1}$ de suelo seco y del total de la microbiota fúngica, expresado en 10^3 U.F.C. $\cdot\text{g}^{-1}$ de suelo seco



Densidades fúngicas en suelo húmedo

Microbiota total

Estudiando aisladamente las muestras procedentes de las zonas humedecidas, se observa que la tendencia general (con ayuda del Gráfico H.4.), reveló que

Telone C-35 logró controlar las poblaciones fúngicas mejor que el resto de tratamientos ensayados.

Salvo algunos casos puntuales, la variación que tuvo lugar en todos los tratamientos fue similar a lo largo del cultivo, destacando dos máximos y el último muestreo en el que las mayores densidades se dieron en las parcelas que habían sido desinfectadas con óxido de propileno a 800 l·ha⁻¹.

Tabla 4.H.5. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero H en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10⁹ U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35	%	OP 600	%	OP 800	%	BM	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	2,10b	87,50	11,16c	100	0,36a	33,33	2,63b	45,66
	22/03/04	4,26a	68,82	5,36a	73,52	7,53b	74,34	7,46b	65,12
	14/05/04	2,53a	84,44	5,43b	82,32	6,86bc	89,96	8,06c	83,74
	14/06/04	6,53c	73,96	4,60ab	48,25	6,00bc	62,28	4,46a	66,34
	26/07/04	3,70a	100	6,43ab	49,74	4,80ab	51,25	9,86b	54,61
	08/09/04	10,06b	64,26	5,50a	42,64	20,33c	77,91	14,13bc	95,50
	<i>F. solani</i>	11/02/04	0,00a	-	0,00a	-	0,36a	33,33	2,10b
22/03/04		1,83b	29,57	1,40ab	19,18	0,70a	6,91	3,10c	27,03
14/05/04		0,43b	14,44	0,16ab	2,53	0,00a	-	0,90c	9,34
14/06/04		2,20a	24,91	4,53b	47,55	2,66a	27,68	2,03a	30,20
26/07/04		0,00a	-	5,36c	41,49	3,16bc	33,81	1,96b	10,89
08/09/04		4,33b	27,66	6,06c	47,03	4,13b	15,84	0,00a	-
<i>Rhizopus</i>		11/02/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns
	22/03/04	0,10a	1,61	0,33ab	4,57	0,70b	6,91	0,16a	1,45
	14/05/04	0,00a	-	0,86b	13,13	0,70b	9,17	0,43b	4,50
	14/06/04	0,10ab	1,13	0,40b	4,20	0,33b	3,46	0,00a	-
	26/07/04	0,00a	-	0,96b	7,47	1,23b	13,17	0,70b	3,87
	08/09/04	0,36ab	2,34	0,76b	5,94	0,73b	2,81	0,20a	1,35
	<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,30ab	12,50	0,00a	-	0,36b	33,33	1,03c
22/03/04		0,00a	-	0,20ab	2,74	1,20c	11,84	0,73bc	6,40
14/05/04		0,03a	1,11	0,13ab	2,02	0,06ab	0,87	0,23b	2,42
14/06/04		0,00a	-	0,00a	-	0,63b	6,57	0,23a	3,47
26/07/04		0,00a	-	0,16ab	1,29	0,16a	1,78	5,53b	30,63
08/09/04		0,90ns	5,74	0,56ns	4,39	0,90ns	3,45	0,46ns	3,15
Total		11/02/04	2,40a	100	11,16b	100	1,10a	100	5,76ab
	22/03/04	6,20a	100	7,30a	100	10,13b	100	11,46b	100
	14/05/04	3,00a	100	6,60b	100	7,63bc	100	9,63c	100
	14/06/04	8,83b	100	9,53b	100	9,63b	100	6,73a	100
	26/07/04	3,70a	100	12,93ab	100	9,36ab	100	18,06b	100
	08/09/04	15,66a	100	12,90a	100	26,10b	100	14,80a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, OP: óxido de propileno.

Microbiota fusárica

Los suelos que de forma provocada se humedecieron en el invernadero, claramente mostraron diferencias significativas respecto a las poblaciones totales de *Fusarium* entre los diferentes tratamientos que se efectuaron (Tabla 4.H.6.).

Tabla 4.H.6. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero H en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35	%	OP 600	%	OP 800	%	BM	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	4,70ns	3,02	16,32ns	26,75	23,44ns	26,07	15,21ns	36,10
	22/03/04	38,77b	49,12	446,95c	49,86	121,39b	70,29	1,64a	0,38
	14/05/04	66,66a	50,00	606,60b	49,89	375,86b	48,80	15,06a	20,57
	14/06/04	5,79ns	0,68	20,31ns	0,78	2,75ns	0,64	11,55ns	0,62
	26/07/04	3,44a	0,52	108,77c	4,84	45,65b	2,31	21,74b	1,19
	08/09/04	3,10a	0,60	17,39b	1,41	1,93a	0,11	9,34ab	0,74
	<i>F. solani</i>	11/02/04	151,33b	96,98	29,52a	48,38	22,45a	24,96	8,86a
22/03/04		38,77a	49,12	446,95b	49,86	47,44a	27,47	430,27b	99,62
14/05/04		66,66a	50,00	606,60b	49,89	375,19b	48,72	54,54a	74,45
14/06/04		840,44b	99,32	2576,11c	99,02	424,00a	99,36	1787,15c	96,46
26/07/04		654,63a	99,48	2137,28b	95,06	1915,56b	96,87	1780,37b	97,37
08/09/04		516,37a	99,40	1218,17b	98,47	1737,09b	99,42	1181,21b	93,80
<i>F. roseum</i>		11/02/04	0,00	-	15,17	24,87	44,05	48,97	18,08
	22/03/04	1,38ns	1,75	2,46ns	0,28	3,86ns	2,24	0,00ns	-
	14/05/04	0,00a	-	2,67ab	0,22	19,08b	2,48	3,65ab	4,98
	14/06/04	0,00a	-	5,11a	0,20	0,00a	-	54,03b	2,92
	26/07/04	0,00a	-	2,40ab	0,11	16,26bc	0,82	26,33c	1,44
	08/09/04	0,00a	-	1,56a	0,13	8,25a	0,47	68,71b	5,46
	Total	11/02/04	156,03b	100	61,01a	100	89,95ab	100	42,15a
22/03/04		78,93a	100	896,36c	100	172,70a	100	431,92b	100
14/05/04		133,32a	100	1215,88b	100	770,14ab	100	73,25a	100
14/06/04		846,23b	100	2601,54c	100	426,75a	100	1852,74bc	100
26/07/04		658,07a	100	2248,46c	100	1977,49b	100	1828,45b	100
08/09/04		519,48a	100	1237,13b	100	1747,29c	100	1259,27b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, OP: óxido de propileno.

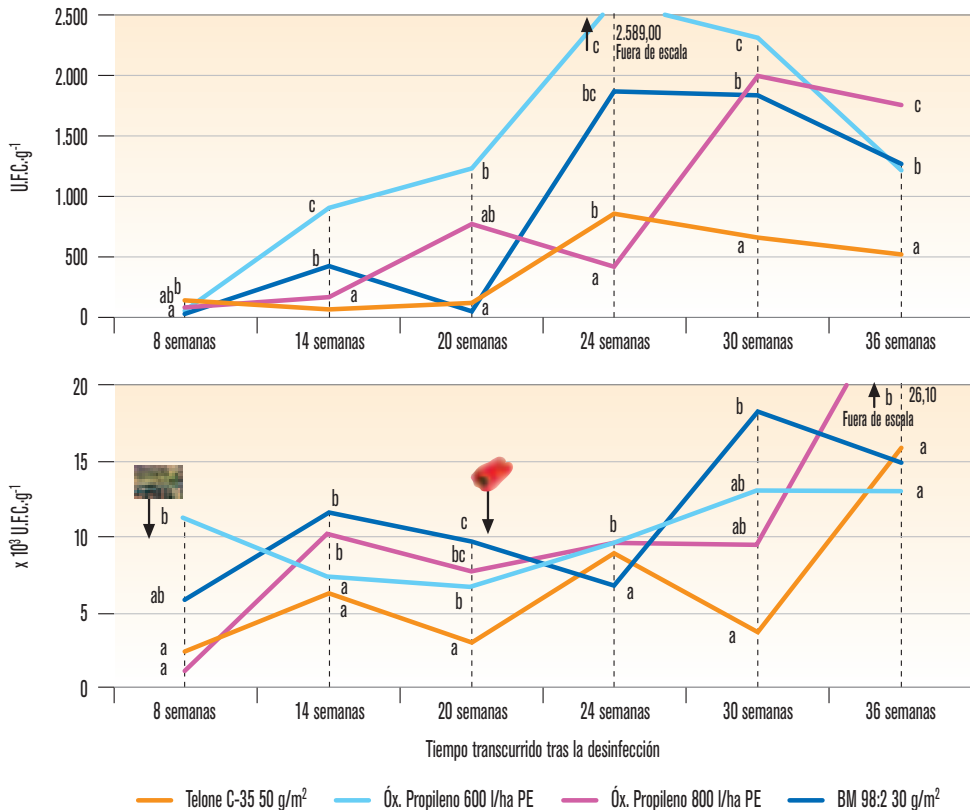
Las parcelas desinfectadas con Telone C-35 fueron las que soportaron menores densidades de *Fusarium* (como también sucediera al analizar el suelo de la zona seca), aunque siguieran la misma tendencia que las desinfectadas con óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹ (Gráfico H.3.). Este último producto, tuvo prácticamente las mismas variaciones a lo largo del cultivo a las dos dosis ensayadas. Las parcelas desinfectadas con óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹, tuvieron las mayores

densidades de *Fusarium* spp. (exactamente igual que sucediera en las zonas situadas entre las líneas de cultivo).

La especie dominante en prácticamente todos los muestreos es *F. solani*, llegando a representar más del 70% del total de especies aisladas. A pesar de ello, las poblaciones de *F. oxysporum* son también considerables (muestreos de marzo y mayo) y algo menores e incluso indetectables las de *F. roseum* (Tabla 4.H.6).

Prestando especial atención al último muestreo efectuado, que me indicaría la densidad fúngica soportada cuando el cultivo se da por terminado y debería realizar una nueva desinfección, se observa (Gráficos H.1. y H.3.) cómo la densidad de *Fusarium* es prácticamente la misma en la zona seca que en la húmeda (varía de 500 a 2.000 U.F.C.:g⁻¹ de suelo). Para la microbiota fúngica total, la densidad soportada bajo condiciones de humedad parece ser superior a cuando no las hay.

Gráficos H.3. y H.4. Comparación de la densidad total de especies *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero H en las zonas humedecidas a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco y del total de la microbiota fúngica, expresado en 10³ U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco



2. EFECTO DEL CULTIVO SOBRE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA AISLADA EN LA ZONA COLONIZADA POR LAS RAÍCES EN SUELOS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS

Los resultados obtenidos muestran similitud con los que publicaran PARKINSON *et al.* (1963) referidos al estudio de la rizosfera de la cebada, la col y el haba en los que llegaron a la siguiente reflexión: la colonización inicial de la parte cercana a las raíces por parte de los hongos puede estar inicialmente constituida por un amplio rango de hongos que rápidamente deja paso a otra microbiota estable y típica dominada por hongos como *Fusarium* spp., *Cylindrocarpon* spp., *Gliocladium* spp. y *Penicillium lilacinum* y *Trichoderma harzianum* (para el caso de las plántulas de col).

En el caso estudiado, de la microbiota que fue encontrada en ensayos preliminares, se decidió omitirla para la expresión de los resultados y basar el trabajo en la que continuamente viene asociándose al cultivo de pimiento.

Campaña 2002/2003

Microbiota total

Por la gran multiplicación de la población fúngica aislada, destacan los muestreos del principio y del final de todos los tratamientos llevados a cabo.

En el primer muestreo tras la desinfección, destacan las grandes densidades registradas tan sólo tres semanas después, en donde las parcelas bromuradas fueron las que presentaron mayor número de U.F.C. \cdot g⁻¹. Todos los tratamientos siguieron las mismas tendencias a lo largo del transcurso del cultivo (Tabla 4.H.7), destacando el muestreo que se hizo 22 semanas después de la desinfección y que coincide con el mes de mayo y el incremento considerable de la temperatura en el invernadero.

Aspergillus spp. y *Rhizopus* spp. fueron los géneros que con mayor frecuencia se aislaron en las parcelas bromuradas y desinfectadas con óxido de propileno y cloropicrina, mientras que Telone C-35 permitió una mayor multiplicación de *Aspergillus* spp. y *F. solani* (Tabla 4.H.7).

Básicamente, la tendencia seguida a lo largo del cultivo, coincide con las observaciones a las que se refiere BURGES (1960) al indicar que tras realizar una desinfección por medios químicos, se da una esterilización inicial a la que sobreviene un desmoronamiento de la población del suelo. A ello le sigue un gran aumento de la misma, varias veces mayor a la densidad de partida. Más tarde, se produce un descenso gradual para volver después a alcanzar el número que tenía al principio. La lentitud que pueda darse hasta producirse un aumento considerable puede deberse con frecuencia al tiempo que tarda en desaparecer el efec-

to del desinfectante. El número de unidades formadoras de colonias no vuelve a su nivel original hasta después de varios meses.

Asimismo, BURGES (1960) asegura que los organismos que aparecen después de la esterilización pertenecen a un reducido número de especies. Según YAO *et al.* (2005), las comunidades fúngicas tienden a equilibrarse más rápidamente que las bacterianas tras realizar tratamientos de pre-plantación.

Tabla 4.H.7. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero H y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM	%	Telone C-35	%	OP 600	%	CL 40	%
<i>Aspergillus</i>	13/01/03	81,10c	96,89	7,30b	45,15	5,20ab	40,63	1,40a	11,80
	26/02/03	0,91ab	9,20	1,90b	60,64	1,13ab	15,04	0,60a	7,41
	07/04/03	1,00b	27,40	0,00a	-	0,03a	3,85	0,00a	-
	19/05/03	1,00a	26,32	3,23b	47,09	2,43ab	26,45	2,23ab	33,00
	30/06/03	5,30b	54,08	0,50a	83,33	0,13a	66,67	0,10a	1,83
	28/07/03	4,85a	53,89	5,86a	69,29	8,53b	62,29	3,73a	55,17
	<i>F. solani</i>	13/01/03	0,60a	0,72	1,53b	9,48	5,13c	40,10	0,56a
26/02/03		0,00a	-	1,23b	39,36	2,73c	36,28	0,20a	2,47
07/04/03		0,00ns	-	0,06ns	100,0	0,00ns	-	0,10ns	4,05
19/05/03		0,50a	13,16	2,46b	35,92	4,60c	50,00	2,20b	32,51
30/06/03		0,90b	9,18	0,00a	-	0,00a	-	0,60b	10,98
28/07/03		0,60a	6,67	1,16a	13,78	2,40b	17,52	0,73a	10,84
<i>Rhizopus</i>		13/01/03	0,15a	0,18	0,30a	1,86	2,33b	18,23	4,00c
	26/02/03	7,10c	71,24	0,00a	-	3,66b	48,67	6,76c	83,54
	07/04/03	2,65d	72,60	0,00a	-	0,83b	96,15	2,36c	95,95
	19/05/03	2,30b	60,53	1,16a	16,99	1,90b	20,65	2,33b	34,48
	30/06/03	3,00b	30,61	0,10a	16,67	0,03a	16,67	4,76c	87,20
	28/07/03	2,20b	24,44	1,43a	16,93	2,03ab	14,84	2,20b	32,51
	<i>Penicillium</i>	13/01/03	1,85b	2,21	7,03c	43,51	0,13a	1,04	5,90bc
26/02/03		1,95b	19,57	0,00a	-	0,00a	-	0,53a	6,58
07/04/03		0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
19/05/03		0,00ns	-	0,00ns	-	0,26ns	2,90	0,00ns	-
30/06/03		0,60b	6,12	0,00a	-	0,03a	16,67	0,00a	-
28/07/03		1,35c	15,00	0,00a	-	0,73b	5,35	0,10ab	1,48
Total		13/01/03	83,70b	100	16,16a	100	12,80a	100	11,86a
	26/02/03	9,96c	100	3,13a	100	7,53b	100	8,10bc	100
	07/04/03	3,65d	100	0,06a	100	0,86b	100	2,46c	100
	19/05/03	3,80a	100	6,86b	100	9,20b	100	6,76b	100
	30/06/03	9,80c	100	0,60a	100	0,20a	100	5,46b	100
	28/07/03	9,00a	100	8,46a	100	13,70b	100	6,76a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo, OP: óxido de propileno, CL: Cloropicrina.

Microbiota fusárica

De forma global, las mayores densidades de *Fusarium* de nuevo se dieron en los suelos desinfectados con óxido de propileno a 600 l/ha⁻¹ (Gráfico H.5.) y las menores, por el contrario, en las parcelas donde se aplicó la mezcla 1,3 dicloropropeño+cloropicrina (Tabla 4.H.8.) que logró controlar más eficazmente la población de *Fusarium* spp. Para la totalidad de los tratamientos, el comportamiento fue el mismo, destacando de forma muy significativa dos momentos en los que las poblaciones de *Fusarium solani* fueron especialmente mayores: los muestreos correspondientes al mes de febrero y al de mayo (Tabla 4.H.8.). *F. solani* fue la especie predominante en todos los muestreos realizados, con una presencia del 80-90%, seguida de *F. oxysporum* (10-20%) y de *F. roseum* (<10%) en todos los casos.

Tabla 4.H.8. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero H en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

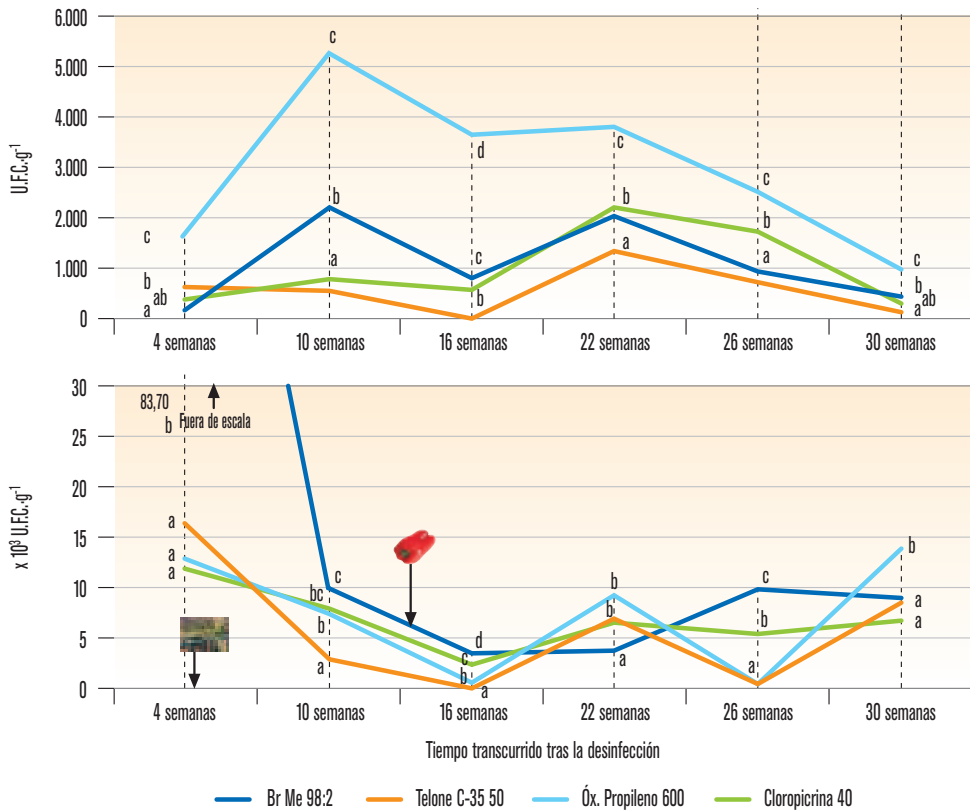
Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM	%	Telone C-35	%	OP 600	%	CL 40	%
<i>F. oxysporum</i>	13/01/03	31,58ab	18,76	64,33bc	10,35	72,01c	4,36	22,77a	6,13
	26/02/03	251,61b	11,66	4,71a	0,84	550,54c	10,55	16,30a	2,12
	07/04/03	122,10b	14,26	3,84a	7,29	157,97b	4,34	31,53a	5,39
	19/05/03	146,30b	7,14	39,75a	3,00	142,32b	3,76	151,09b	7,00
	30/06/03	75,24b	8,05	24,40a	3,32	85,76b	3,42	83,90b	4,87
	28/07/03	18,43ab	4,68	8,82a	7,90	32,63c	3,32	32,12c	10,08
	<i>F. solani</i>	13/01/03	136,75a	81,24	557,03b	89,65	1581,40c	95,64	348,50a
26/02/03		1870,80b	86,73	548,44a	97,09	4657,79c	89,26	746,23a	96,80
07/04/03		704,29b	83,23	43,42a	82,22	3482,70c	95,58	542,83b	92,86
19/05/03		1867,27a	91,07	1251,61a	94,53	3625,50b	95,88	1995,03a	92,39
30/06/03		831,71a	89,03	691,71a	94,16	2411,33b	96,13	1626,63a	94,50
28/07/03		370,74b	94,02	96,41a	86,32	949,06c	96,49	281,02b	88,20
<i>F. roseum</i>		13/01/03	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns
	26/02/03	34,86b	1,61	11,74a	2,08	9,76a	0,19	8,35a	1,08
	07/04/03	30,11b	3,52	5,53a	10,49	3,23a	0,09	10,22a	1,75
	19/05/03	36,72b	1,79	32,72b	2,47	13,48a	0,36	13,30a	0,62
	30/06/03	27,21b	2,91	18,50ab	2,52	11,35a	0,45	10,68a	0,62
	28/07/03	5,12ns	1,30	6,44ns	5,77	1,91ns	0,19	5,49ns	1,72
	Total	13/01/03	168,33a	100	621,36b	100	1653,42c	100	371,27ab
26/02/03		2157,10b	100	564,90a	100	5218,10c	100	770,89a	100
07/04/03		856,51c	100	52,80a	100	3643,91d	100	584,60b	100
19/05/03		2050,30b	100	1324,08a	100	3781,31c	100	2159,44b	100
30/06/03		934,17a	100	734,62a	100	2508,45c	100	1721,22b	100
28/07/03		394,30b	100	111,68a	100	983,60c	100	318,63ab	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo, OP: Óxido de propileno, CL: Cloropicrina.

En las parcelas desinfectadas con cloropicrina, las densidades se situaron por encima de las bromuradas y de las del Telone C-35, pero por debajo de las del óxido de propileno.

Tal y como se comprueba en el Gráfico H.5., las densidades de *Fusarium* al final del cultivo volvieron a ser prácticamente las mismas que las del principio, verificándose así lo ya referido por BURGES (1960) anteriormente.

Gráficos H.5. y H.6. Comparación de las especies *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero H a lo largo de la campaña 2002/2003, expresado en U.F.C.⁻¹ de suelo seco y del total de la microbiota fúngica, expresado en 10³ U.F.C.⁻¹ de suelo seco



Campaña 2003/2004

Microbiota total

Partiendo de densidades fúngicas considerables, sobre todo para todos los químicos excepto para la combinación 1,3-Dic+pic, cabe señalar dos momentos

importantes en cuanto a la gran multiplicación de hongos que tiene lugar (el muestreo de finales de marzo, a las 14 semanas de la desinfección, unas diez después del trasplante) y el de finales de julio (30 semanas después de desinfectar).

Observando los resultados obtenidos en la Tabla 4.H.9., prácticamente, la misma cohorte de hongos está presente en todos los muestreos, con independencia del tratamiento efectuado. Por su permanencia y abundancia, sobresale el género *Aspergillus* spp., que con algunas particularidades, alcanza al igual que los demás géneros su máxima densidad en el muestreo efectuado en julio.

En lo que respecta al cómputo total de hongos, Telone C-35 y bromuro de metilo no mostraron diferencias significativas entre sí (salvo en los tres primeros muestreos), aunque sí lo hicieron respecto al óxido de propileno, especialmente, a la dosis de $800 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$, que curiosamente tuvo peor control que a la menor dosis analizada.

A la mayor dosis de óxido de propileno, se detectó el mayor número de colonias fúngicas de todos los tratamientos ensayados (Gráfico H.8.).

Al final del cultivo, los suelos muestreados que soportaron menor densidad de microbiota fúngica fueron los que habían sido desinfectados con óxido de propileno a la menor dosis, seguidos de Telone C-35, bromuro de metilo y óxido de propileno a $800 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$, que apenas mostraron diferencias significativas entre sí.

Microbiota fusárica

En todos los tratamientos se observa el continuo aumento de los *Fusaria* a lo largo del cultivo; aumento que se ve interrumpido en el último muestreo correspondiente al mes de septiembre, cuando el cultivo se dio por finalizado y podría decirse que el suelo y la planta están “agotados”. Si se compara este comportamiento (a las 30 semanas de la desinfección) con el que tuvo lugar en los casos anteriores estudiados, se verá como en este, el control ejercido por todos los químicos fue menor. Al observar detenidamente el Gráfico H.7. correspondiente a las densidades fusáricas soportadas por el suelo rizosférico y compararlas con el de la zona seca y la humedecida, se comprueba como en el primero, las densidades de *Fusarium* fueron mucho más elevadas, como ya se comentó al principio del apartado referente a este invernadero.

De nuevo, cabe destacar la importancia de *F. solani* frente a las otras dos especies de *Fusarium* a lo largo del cultivo.

El control sobre los *Fusaria* proporcionado por la combinación de 1,3-Dic+pic fue similar aún con ligeras diferencias respecto al bromuro de metilo,

pero ambos sí se diferenciaron significativamente del óxido de propileno, a ambas dosis. El control efectuado a la dosis de 600 l·ha⁻¹ fue inferior que a la dosis de 800 l·ha⁻¹.

Tabla 4.H.9. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero H y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35	%	OP 600	%	OP 800	%	BM	%
<i>Aspergillus</i>	12/01/04	1,83a	73,33	12,66b	85,78	25,13c	92,06	10,53b	82,72
	11/02/04	2,46bc	80,43	1,86ab	86,15	7,76c	87,59	0,60a	42,86
	22/03/04	1,10a	26,61	14,30c	72,84	7,40b	21,10	28,93d	86,11
	03/05/04	3,23b	94,17	1,36a	83,67	2,40b	98,63	2,76b	97,65
	14/06/04	4,13b	47,88	0,73a	75,86	17,53c	98,13	5,73b	73,50
	26/07/04	17,40b	79,82	3,36a	70,63	70,23c	97,95	7,50ab	78,13
	08/09/04	7,76bc	74,68	0,56a	9,71	9,20c	67,65	5,03b	40,27
	<i>F. solani</i>	12/01/04	0,40a	16,00	1,53b	10,38	0,53a	1,95	0,26a
11/02/04		0,00a	-	0,06a	3,08	0,76b	8,65	0,76b	54,76
22/03/04		0,40a	9,68	2,50b	12,73	0,26a	0,76	2,06b	6,15
03/05/04		0,00a	-	0,20b	12,24	0,00a	-	0,00a	-
14/06/04		4,03c	46,72	0,06a	6,90	0,06a	0,37	1,46b	18,80
26/07/04		4,40b	20,18	0,33a	6,99	0,03a	0,05	0,43a	4,51
08/09/04		1,56a	15,06	4,56b	78,29	1,70a	12,50	6,76c	54,13
<i>Rhizopus</i>		12/01/04	0,20a	8,00	0,46b	3,16	0,63b	2,32	0,16a
	11/02/04	0,00a	-	0,13b	6,15	0,03ab	0,38	0,03ab	2,38
	22/03/04	2,53c	61,29	0,80b	4,07	0,06a	0,19	0,36ab	1,09
	03/05/04	0,20b	5,83	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
	14/06/04	0,33ns	3,86	0,10ns	10,34	0,23ns	1,31	0,26ns	3,42
	26/07/04	0,00a	-	1,06b	22,38	0,16a	0,23	0,06a	0,69
	08/09/04	1,06b	10,26	0,00a	-	2,20c	16,18	0,70a	5,60
	<i>Penicillium</i>	12/01/04	0,06a	2,67	0,10a	0,68	1,00b	3,66	1,76b
11/02/04		0,60b	19,57	0,10a	4,62	0,30a	3,38	0,00a	-
22/03/04		0,10a	2,42	2,03a	10,36	27,33b	77,95	2,23a	6,65
03/05/04		0,00ns	-	0,06ns	4,08	0,03ns	1,37	0,06ns	2,35
14/06/04		0,13ab	1,54	0,06ab	6,90	0,03a	0,19	0,33b	4,27
26/07/04		0,00a	-	0,00a	-	1,26b	1,77	1,60c	16,67
08/09/04		0,00a	-	0,70b	12,00	0,50b	3,68	0,00a	-
Total		12/01/04	2,50a	100	14,76b	100	27,30c	100	12,73b
	11/02/04	3,06bc	100	2,16ab	100	8,86c	100	1,40a	100
	22/03/04	4,13a	100	19,63b	100	35,06c	100	33,60c	100
	03/05/04	3,43ns	100	1,63ns	100	2,43ns	100	2,83ns	100
	14/06/04	8,63ab	100	0,96a	100	17,86b	100	7,80ab	100
	26/07/04	21,80b	100	4,76a	100	71,70c	100	9,60ab	100
	08/09/04	10,40b	100	5,83a	100	13,60c	100	12,50bc	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo, OP: Óxido de propileno.

Tabla 4.H.10. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero H y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35	%	OP 600	%	OP 800	%	BM	%
<i>F. oxysporum</i>	12/01/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	11/02/04	9,55ns	2,77	12,55ns	29,02	2,62ns	10,08	3,09ns	11,52
	22/03/04	0,00ns	-	4,64ns	1,41	0,99ns	1,53	0,00ns	-
	03/05/04	2,79a	0,46	80,98c	6,47	26,04b	4,55	2,32a	0,29
	14/06/04	0,74a	0,10	4,65a	0,22	70,52b	4,10	6,83a	0,73
	26/07/04	4,92a	0,19	72,04b	1,83	14,15a	0,43	89,45b	3,44
	08/09/04	4,57a	0,45	77,96b	2,23	12,47a	5,23	5,89a	0,73
	<i>F. solani</i>	12/01/04	1,80a	90,71	16,21b	100	0,83a	100	2,20a
11/02/04		331,72b	96,49	25,16a	58,19	0,00a	-	12,72a	47,31
22/03/04		396,58b	100	323,09b	98,58	63,48a	98,46	139,28a	100
03/05/04		590,59a	98,27	1145,45b	91,56	542,28a	94,84	796,48ab	99,70
14/06/04		694,06a	98,20	2079,19b	99,53	1640,97b	95,55	914,34a	98,12
26/07/04		2480,88a	99,80	3850,03b	98,05	3223,56ab	99,34	2479,87a	95,44
08/09/04		997,17b	99,03	3362,98c	96,37	221,19a	92,84	790,05b	98,73
<i>F. roseum</i>		12/01/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns
	11/02/04	2,51ns	0,73	5,52ns	12,78	23,35ns	89,91	11,06ns	41,16
	22/03/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	03/05/04	7,57a	1,26	24,46b	1,95	3,44a	0,60	0,00a	-
	14/06/04	11,97ns	1,69	5,12ns	0,24	5,74ns	0,33	10,61ns	1,13
	26/07/04	0,00a	-	4,42ab	0,11	7,21ab	0,22	28,97b	1,11
	08/09/04	5,10a	0,50	48,69b	1,39	4,56a	1,91	4,21a	0,52
	Total	12/01/04	1,80a	100	16,21b	100	0,83a	100	2,20a
11/02/04		343,79b	100	43,25a	100	25,97a	100	26,89a	100
22/03/04		396,58b	100	327,73b	100	64,47a	100	139,28ab	100
03/05/04		600,96a	100	1250,90c	100	571,77ab	100	798,80bc	100
14/06/04		706,79a	100	2088,97c	100	1717,25bc	100	931,78ab	100
26/07/04		2485,80a	100	3926,51c	100	3244,92b	100	2598,30a	100
08/09/04		1006,84c	100	3489,64d	100	238,22a	100	800,16b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, BM: Bromuro de metilo, OP: Óxido de propileno, CL: Cloropicrina.

3. EFECTO DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DEL SUELO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO DE LAS PLANTAS Y LA PRODUCCIÓN

Campaña 2002/2003

En lo que respecta al desarrollo vegetativo de las plantas, todas las alternativas químicas al bromuro de metilo ensayadas en este invernadero, permitieron un crecimiento significativamente superior al de las plantas de parcelas bromuradas (Gráfico H.9.).

Gráficos H.7. y H.8. Variación del total de especies *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero H a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco y del total de la microbiota fúngica, expresado en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco

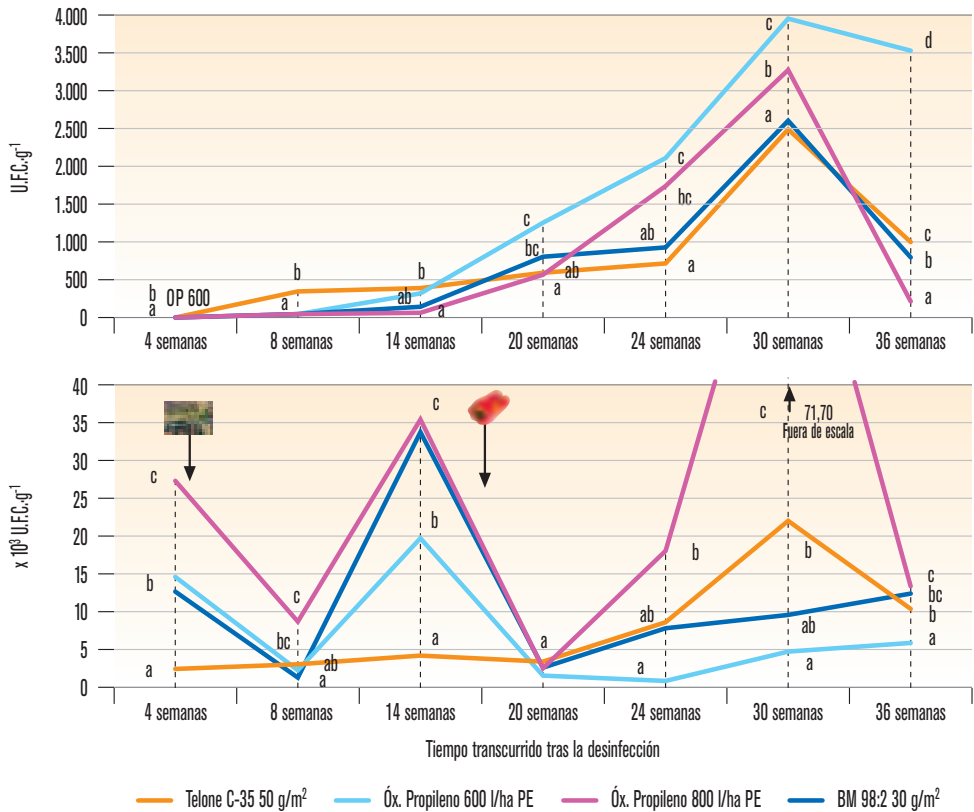
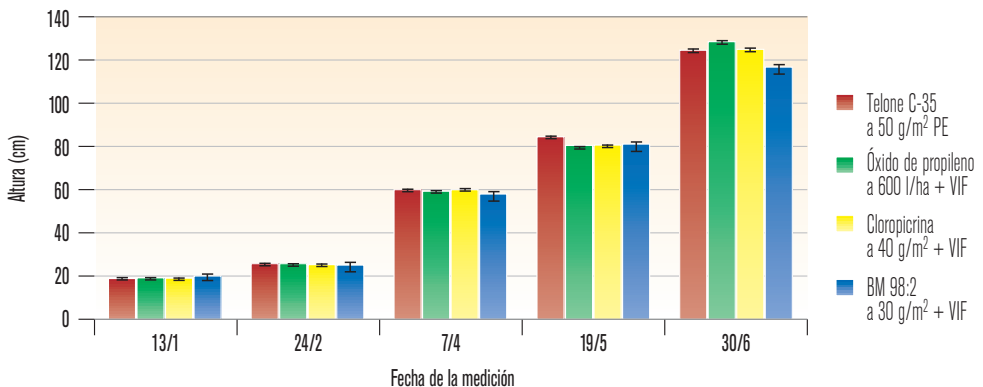
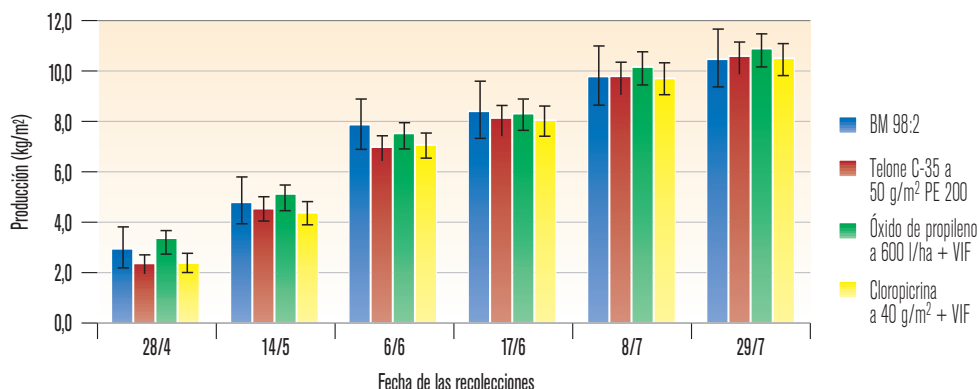


Gráfico H.9. Variación de la altura de las plantas en el Invernadero H. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con Log₁₀ (x)



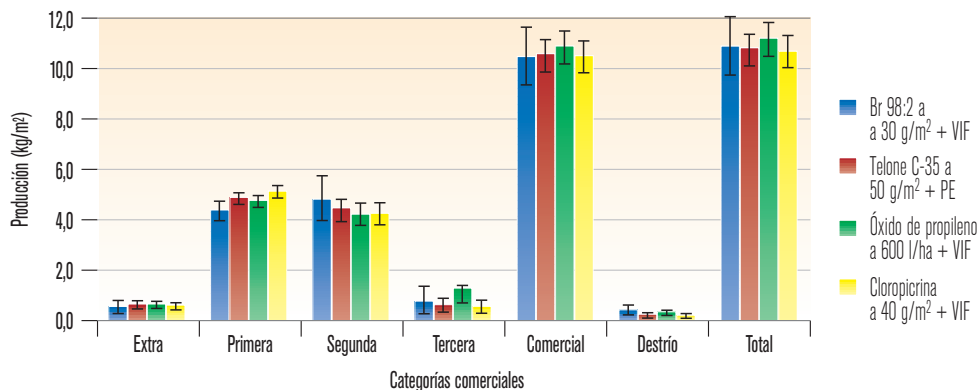
En lo que se refiere a las producciones obtenidas, tal y como se aprecia en el Gráfico H.10., ningún tratamiento ensayado como alternativa, se diferenció significativamente del bromuro de metilo y lo mismo sucedió respecto a las categorías comerciales de los frutos recolectados (Gráfico H.11.).

Gráfico H.10. Producción comercial media acumulada en el Invernadero H. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



La primera recolección no mostró diferencias entre el óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹ y el bromuro de metilo. Sí las hubo entre el óxido de propileno y el Telone C-35 o la cloropicrina.

Gráfico H.11. Producción media por categorías comerciales en el Invernadero H. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$

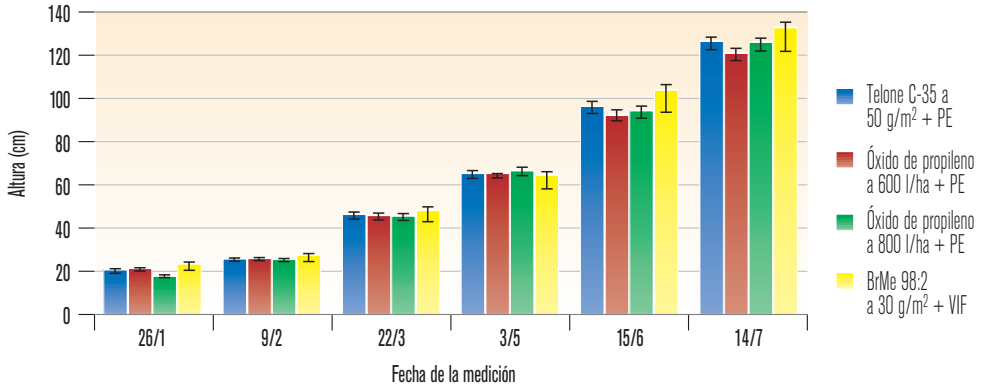


Campaña 2003/2004

Los resultados del desarrollo vegetativo alcanzado por las plantas al final del cultivo, ponen de manifiesto que tanto el Telone C-35 como el bromuro de

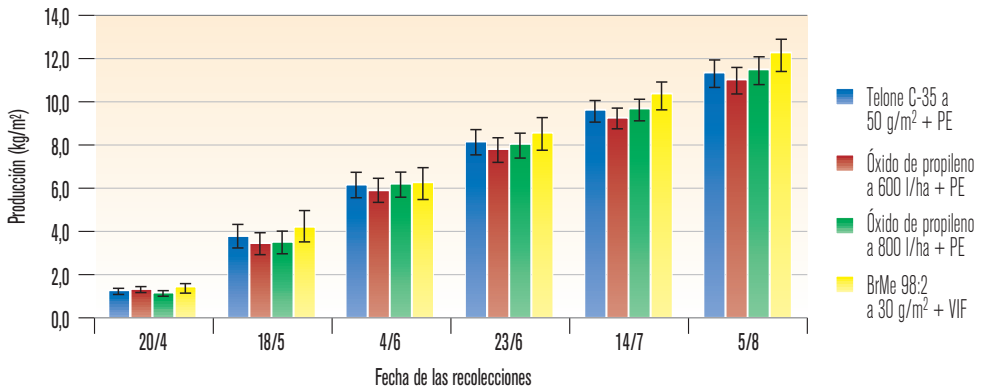
metilo, siendo en este último tratamiento donde las plantas crecieron más (Gráfico H.12.).

Gráfico H.12. Variación de la altura de las plantas en el Invernadero H. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x)$



A su vez, los mismos resultados se dieron en relación a la producción acumulada al final de la campaña 2003/2004 que en la 2002/2003 para los mismos tratamientos ensayados, pues no hubo diferencias significativas entre ellos ni respecto a la producción (Gráfico H.13.) ni respecto a las categorías comerciales de los frutos recolectados (Gráfico H.14.).

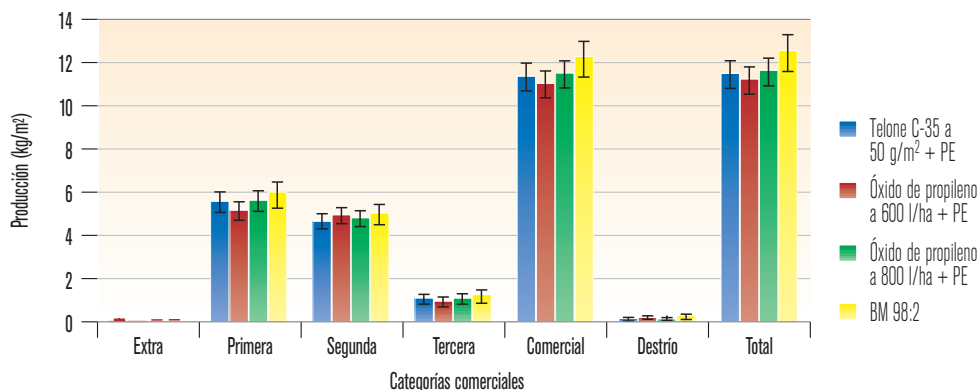
Gráfico H.13. Producción comercial media acumulada en el Invernadero H. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



A la vista de los resultados obtenidos y en un intento por relacionar cualquier aumento de la densidad fúngica aislada con una ralentización o no del desarrollo vegetativo, podemos apreciar que no se puede ver ninguna atribución. En todo caso, se podría plantear la hipótesis de si las altas densidades de *Fusarium* regis-

tradas en el primer muestreo de la campaña 2002/2003 podrían tener como consecuencia el menor crecimiento de esas plantas al final de la campaña.

Gráfico H.14. Producción media por categorías comerciales en el Invernadero H. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



INVERNADERO CH

1. EFECTO DEL HUMEDECIMIENTO DEL SUELO DURANTE EL CULTIVO SOBRE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA AISLADA EN SUELOS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS

La influencia del agua sobre el crecimiento e instalación de determinados géneros de hongos en el suelo no estuvo en ninguno de los tratamientos tan clara como en el caso del testigo (válido también para el caso de las especies de *Fusarium* spp.; Tabla 4.CH.2.); las muestras de suelo procedentes de la zona comprendida entre las líneas de cultivo fueron las colonizadas minoritariamente por los hongos medidos.

Resultados parecidos fueron los que se obtuvieron en las parcelas bromuradas, donde se multiplicaron más hongos en la zona humedecida, como se viene observando en los casos analizados.

En cambio, para el resto de tratamientos basados en métodos no químicos, los resultados parecen estar más influenciados por la materia orgánica añadida que por la repercusión que pudiera tener la humedad en el suelo, ya que las densidades son muy similares en los tres casos estudiados.

Así, las parcelas que no habían sido cubiertas por un plástico que retuviera los gases producidos por la descomposición y mantuviera la temperatura alcanzada en el suelo, fueron las que mayores densidades fusáricas tuvieron, y especialmente en el suelo que rodea las raíces.

Tabla 4.CH.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo			BM 98.2 30 g/m ²			B 2° + S		
		Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	8,23b	0,87a	1,27a	4,63c	0,97a	3,47b	21,87b	3,70a	24,03b
	22/03/04	2,70ns	1,17ns	2,63ns	5,00a	2,63a	11,33b	20,40b	17,93b	10,27a
	03/05/04	0,83a	0,67a	5,17b	3,13ns	2,47ns	2,40ns	23,43c	12,73b	4,20a
	14/06/04	2,23b	0,47a	3,73b	1,83a	1,43a	5,20b	14,37b	2,70a	7,07b
	26/07/04	22,13c	2,73a	9,53b	2,13a	20,23c	6,70b	6,17a	9,47a	13,13b
<i>F. solani</i>	11/02/04	0,33a	1,03b	1,07b	0,00ns	0,00ns	0,07ns	15,30b	2,17a	0,27a
	22/03/04	0,00a	0,07a	1,77b	0,80b	0,07a	0,03a	0,67ab	0,07a	2,07b
	03/05/04	0,73b	0,10a	0,70b	0,27b	0,00a	0,00a	1,60b	0,70a	2,13b
	14/06/04	0,07a	0,27a	1,93b	0,00ns	0,00ns	0,00ns	15,60b	12,10b	0,27a
	26/07/04	2,20b	0,13a	4,00c	0,47ab	0,20a	0,70b	0,47a	3,50b	2,63b
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	1,07ns	1,43ns	1,17ns	1,80c	0,00a	1,07b	0,37a	0,10a	1,83b
	22/03/04	1,93a	1,37a	3,03b	0,13ns	0,27ns	0,57ns	1,23b	0,10a	0,00a
	03/05/04	3,23b	2,17a	1,73a	2,10c	0,13a	0,87b	0,53b	0,10a	0,73b
	14/06/04	1,30b	0,00a	2,13c	1,30b	0,00a	0,90b	0,07a	0,00a	1,63b
	26/07/04	2,23c	0,87a	2,07b	1,27b	0,07a	0,90b	0,23a	0,00a	0,63b
<i>Penicillium</i>	11/02/04	1,27b	0,00a	0,50ab	22,57a	23,07a	51,27b	0,00a	10,40b	10,33b
	22/03/04	0,07a	0,53b	0,00a	68,37c	18,03a	21,33b	1,17b	0,60ab	0,53a
	03/05/04	0,17a	0,50b	0,50b	1,20a	8,57a	23,07b	5,47b	0,03a	1,40a
	14/06/04	0,37ab	0,57b	0,27a	0,37a	2,93a	15,20b	0,23ab	0,00a	0,27b
	26/07/04	1,00a	5,27b	0,80a	0,23a	16,60b	20,97b	0,03a	0,17a	1,07b
Total	11/02/04	10,90b	3,33a	4,00a	29,00a	24,03a	55,87b	37,53b	16,37a	36,47b
	22/03/04	4,70a	3,13a	7,43b	74,30b	21,00a	33,27a	23,47b	18,70b	12,87a
	03/05/04	4,97b	3,43a	8,10b	6,70a	11,17ab	26,33b	31,03c	13,57b	8,47a
	14/06/04	3,97b	1,30a	8,07c	3,50a	4,37a	21,30b	30,27b	14,80ab	9,23a
	26/07/04	27,57c	9,00a	16,40b	4,10a	37,10b	29,27b	6,90a	13,13b	17,47b

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: bromuro de metilo.

Tabla 4.CH.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B 2° + S + plantas			B 2° + plantas			B 1° + S + plantas		
		Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	8,40b	3,37a	11,03b	6,00b	3,08a	8,57c	31,00c	13,93b	9,97a
	22/03/04	4,70a	8,60b	9,27ab	3,60a	8,57b	3,90ab	22,33ns	17,00ns	16,07ns
	03/05/04	4,43ab	3,80a	10,17b	3,01a	1,40a	5,27b	19,77ns	21,97ns	20,93ns
	14/06/04	1,57a	1,23a	8,63b	3,37a	4,23a	6,17b	25,97b	8,20a	28,67b
	26/07/04	8,33a	17,73b	11,47b	6,17a	18,70c	17,37b	33,90b	38,70b	12,47a
<i>F. solani</i>	11/02/04	0,07ns	0,17ns	1,03ns	0,43ns	0,83ns	0,03ns	0,13ns	0,07ns	0,33ns
	22/03/04	0,07ns	0,03ns	0,50ns	0,27ns	0,43ns	0,03ns	0,00a	0,50b	0,30ab
	03/05/04	14,07c	6,17b	1,30a	2,08b	0,10a	0,10a	0,10ns	0,00ns	0,03ns
	14/06/04	9,47b	20,53c	0,30a	0,23a	0,03a	5,53b	0,10a	6,27b	0,70a
	26/07/04	0,97b	0,10a	1,43b	1,67ns	0,83ns	2,77ns	4,20c	0,00a	1,40b
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	1,17a	2,13ab	2,77b	3,60a	4,70b	0,73a	1,20b	0,07a	1,6b
	22/03/04	2,37b	0,53a	1,53a	3,27b	3,40b	0,33a	1,60b	1,07ab	0,93a
	03/05/04	0,33ns	0,10ns	2,00ns	3,17b	4,10b	0,30a	1,30b	0,20a	0,60a
	14/06/04	0,17ns	0,07ns	2,13ns	2,67ab	3,83b	0,27a	0,07a	0,07a	0,50b
	26/07/04	1,27c	0,00a	1,17b	0,93ab	1,77b	0,17a	0,13a	0,93b	0,70b
<i>Penicillium</i>	11/02/04	48,30b	0,00a	2,70a	0,00a	0,30b	3,90c	2,23b	0,00a	0,63a
	22/03/04	0,80b	4,63b	0,07a	0,13b	0,00a	0,10a	0,60a	54,27b	0,63a
	03/05/04	0,47ab	0,10a	0,83b	0,13a	0,00a	0,27b	2,13b	1,73ab	0,57a
	14/06/04	0,13ns	0,90ns	0,47ns	0,01a	0,63b	0,17a	0,97b	0,10a	0,47ab
	26/07/04	1,33c	0,03a	0,10b	0,23a	2,70b	0,70a	1,47ns	3,87ns	0,40ns
Total	11/02/04	57,93c	5,67a	17,53b	10,03a	8,87a	13,23b	34,57b	14,07a	12,57a
	22/03/04	7,93a	13,80c	11,37b	7,27b	12,40b	4,37a	24,53b	72,83c	17,93a
	03/05/04	19,30c	10,17a	14,30b	8,33c	5,60a	5,93b	23,30ns	23,90ns	22,13ns
	14/06/04	11,33a	22,73b	11,73a	6,27a	8,73b	12,13c	27,10b	14,63a	30,33b
	26/07/04	11,70a	17,87b	14,17ab	9,00a	24,00b	21,00b	39,70b	43,50b	14,97a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.CH.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo			BM 30			B 2° + S		
		Raíces	Líneas	Humedecido	Raíces	Líneas	Humedecido	Raíces	Líneas	Humedecido
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	4,83ns	9,09ns	3,56ns	14,82ns	6,89ns	0,96ns	297,86b	104,53ab	1,30a
	22/03/04	60,23a	16,14a	229,86b	11,96a	0,00a	28,07b	4,35a	0,00a	65,99b
	03/05/04	45,69b	13,14a	6,91a	10,03ns	1,57ns	2,27ns	24,42ns	0,00ns	7,50ns
	14/06/04	52,66b	0,00a	87,10b	32,49b	0,00a	0,00a	7,13a	0,00a	92,83b
	26/07/04	93,27c	0,00a	1782b	37,21b	8,43a	18,77ab	20,01b	0,00a	31,39b
<i>F. solani</i>	11/02/04	171,74b	107,47b	29,94a	529,23b	69,73a	77,66a	484,97b	57,02a	18,74a
	22/03/04	505,67b	60,51a	3349,15c	275,89b	21,00a	53,75a	12,88a	1429,92b	17,84a
	03/05/04	498,24a	497,98a	1817,09b	1107,22b	251,60a	247,53a	67,56ab	7,79a	816,14b
	14/06/04	1015,64	76,32a	1560,39b	910,94c	32,74a	58,22b	205,52b	31,79a	438,41c
	26/07/04	978,61b	23,28a	1171,67b	1255,02b	1234,15b	275,10a	1450,55c	22,06a	395,63b
<i>F. roseum</i>	11/02/04	4,34a	38,09b	0,00a	86,67b	31,57b	10,59a	195,83b	10,44a	0,00a
	22/03/04	53,19a	13,00a	173,93b	12,22ab	0,00a	62,17b	9,14a	0,00a	16,68b
	03/05/04	18,99b	5,10a	24,80b	66,02b	2,63a	16,37ab	67,17b	0,00a	39,24ab
	14/06/04	204,76c	0,00a	124,44b	88,65ab	6,91ab	0,00d	83,81ab	0,00a	217,20a
	26/07/04	25,59b	0,00a	30,89b	64,09c	18,91b	7,17a	12,90ab	0,00a	33,42b
Total	11/02/04	180,92b	154,67b	33,51a	630,73c	108,20b	20,05a	978,68b	172,00a	89,22a
	22/03/04	619,10b	89,66a	3752,96c	301,09b	21,01a	200,52b	26,38a	1429,93b	144,01b
	03/05/04	562,93a	516,24a	1848,82b	1183,28b	255,82a	862,90b	160,15b	780a	266,18b
	14/06/04	1273,06b	76,33a	1771,59b	1032,09c	39,66a	748,45b	296,47b	31,80a	58,23a
	26/07/04	1097,48b	23,29a	1220,39b	1356,33b	1261,50b	460,46a	1483,47b	22,06a	301,05a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.CH.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B 2º + S + plantas			B 2º + plantas			B 1º + S + plantas		
		Raíces	Líneas	Humedecido	Raíces	Líneas	Humedecido	Raíces	Líneas	Humedecido
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	128,76ab	5,22a	324,62b	69,90b	3,51a	55,37b	13,60b	0,00a	16,70b
	22/03/04	5,15a	3,18a	35,98b	56,64ns	24,494ns	38,79ns	34,52ns	32,12ns	29,17ns
	03/05/04	0,00ns	0,00ns	4,83ns	0,92ns	8,63ns	1,26ns	0,00ns	0,00ns	3,81ns
	14/06/04	5,95ns	15,64ns	5,99ns	84,64b	4,86a	29,67a	65,08b	0,00a	31,94b
	26/07/04	22,80a	0,00a	232,63b	28,41ns	9,64ns	9,63ns	18,71b	0,00a	2794b
	11/02/04	65,45a	1,76a	557,11b	2804,22c	6,41a	1691,17b	146,19b	4,03a	375,40c
<i>F. solani</i>	22/03/04	18,75a	81,84ab	114,53b	1230,33a	3482,25b	2866,77ab	25,75a	212703c	531,60b
	03/05/04	21,50a	16,40a	92,06b	1151,65a	2096,90b	831,61a	174,69a	178,59a	1043,01b
	14/06/04	48,84b	5,67a	46,01a	1754,85b	2818,60c	948,79a	226,49b	52,12a	236,29b
	26/07/04	224,32b	53,76a	1003,65c	3547,36b	1441,27b	998,01a	292,24a	865,36b	251,55a
	11/02/04	0,00a	0,85ab	6,73b	98,93b	0,00a	31,75a	34,51b	0,00a	5,15a
	22/03/04	0,00a	2,53a	33,16b	55,8b	6,44a	64,64b	33,88ns	15,10ns	86,12ns
<i>F. roseum</i>	03/05/04	0,00a	4,16a	63,88b	81,84b	14,91a	10,75a	33,73b	2,80a	7,97ab
	14/06/04	201,45b	5,95a	18,28a	92,58b	18,37a	60,71ab	22,89a	2,75a	185,28b
	26/07/04	22,44b	3,14a	10,50a	32,87b	0,08a	2,39ab	4,98ns	8,44ns	4,28ns
	11/02/04	194,21a	7,84a	888,48b	2972,46c	9,93a	1778,31b	194,31b	4,03a	397,27c
	22/03/04	23,91a	87,56b	183,88c	1342,79a	3513,19b	2970,21ab	94,16a	2174,26c	646,90b
	03/05/04	21,50a	20,57a	160,79b	1234,41a	2120,45b	843,64a	208,42a	18140a	1054,81b
Total	14/06/04	256,25b	27,28a	70,30ab	1932,08b	2841,85c	1039,18a	314,48b	54,87a	453,52b
	26/07/04	271,57b	56,91a	1246,79c	3608,65c	1451,01b	1010,04a	315,93a	863,81b	283,78a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Densidades fúngicas en suelo seco*Microbiota total*

Las parcelas que no fueron desinfectadas, soportaron las menores densidades de hongos en las zonas que no recibieron humedad adicional (Tabla 4.CH.3. y Gráfico CH.2.).

La biofumigación reiterada cubierta o no con plástico a la que se añadieron restos de plantas tuvo un comportamiento muy similar aunque la fermentación bajo plástico hizo que se multiplicaran mayor densidad de los hongos generalmente aislados. De hecho, las parcelas biofumigadas que fueron solarizadas por primera vez, fueron las que soportaron mayor número de colonias.

Tabla 4.CH.3. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero CH en las zonas situadas entre las dos líneas de cultivo y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 30	%	B 2 ^o +S	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	0,86a	26,00	0,96a	4,02	3,70b	22,61
	22/03/04	1,16a	37,23	2,63a	12,54	17,93c	95,90
	14/05/04	0,66a	19,42	2,46ab	22,09	12,73c	93,86
	14/06/04	0,46a	35,90	1,43ab	32,82	2,70bc	18,24
	26/07/04	2,73a	30,37	20,23c	54,54	9,46b	72,08
<i>F solani</i>	11/02/04	1,03b	31,00	0,00a	-	2,16c	13,24
	22/03/04	0,06a	2,13	0,06a	0,32	0,06a	0,36
	14/05/04	0,10a	2,91	0,00a	-	0,70a	5,16
	14/06/04	0,26a	20,51	0,00a	-	12,10b	81,76
	26/07/04	0,13a	1,48	0,20a	0,54	3,50b	26,65
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	1,43b	43,00	0,00a	-	0,10a	0,61
	22/03/04	1,36c	43,62	0,26a	1,27	0,10a	0,53
	14/05/04	2,16b	63,11	0,13a	1,19	0,10a	0,74
	14/06/04	0,00a	0,00	0,00a	-	0,00a	-
	26/07/04	0,86b	9,63	0,06a	0,18	0,00a	-
<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,00b	-	23,06a	95,98	10,40a	63,54
	22/03/04	0,53a	17,02	18,03c	85,87	0,60a	3,21
	14/05/04	0,50a	14,56	8,56c	76,72	0,03a	0,25
	14/06/04	0,56a	43,59	2,93b	67,18	0,00a	-
	26/07/04	5,26b	58,52	16,60c	44,74	0,16a	1,27
Total	11/02/04	3,33a	100,	24,03c	100	16,37b	100
	22/03/04	3,13a	100	21,00c	100	18,70bc	100
	14/05/04	3,43a	100	11,16bc	100	13,56d	100
	14/06/04	1,30a	100	4,36a	100	14,80b	100
	26/07/04	9,00a	100	37,10cd	100	13,13b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Biofumigación.

Tabla 4.CH.3. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero CH en las zonas situadas entre las dos líneas de cultivo y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco* (continuación)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B 2°+S+pl	%	B 2°+pl	%	B 1°+S+pl	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	3,36b	61,21	3,03b	34,21	13,93c	99,05
	22/03/04	8,60b	62,47	8,56b	69,09	17,00c	23,34
	14/05/04	3,80b	95,00	1,40a	25,00	21,96d	91,91
	14/06/04	1,23ab	56,06	4,23cd	48,47	8,20d	56,04
	26/07/04	17,73c	99,81	18,70c	77,92	38,70d	88,97
<i>F solani</i>	11/02/04	0,16b	3,03	0,83b	9,40	0,06a	0,47
	22/03/04	0,03a	0,24	0,43b	3,49	0,50b	0,69
	14/05/04	6,16b	154,17	0,10a	1,79	0,00a	-
	14/06/04	20,53c	933,33	0,03a	0,38	6,26b	42,82
	26/07/04	0,10a	0,56	0,83a	3,47	0,00a	-
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	2,13b	38,79	4,70c	53,01	0,06a	0,47
	22/03/04	0,53ab	3,87	3,40d	27,42	1,06bc	1,46
	14/05/04	0,10a	2,50	4,10c	73,21	0,20a	0,84
	14/06/04	0,06a	3,03	3,83b	43,89	0,06a	0,46
	26/07/04	0,00a	-	1,76c	7,36	0,93b	2,15
<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,00b	-	0,30	3,38	0,00	-
	22/03/04	4,63b	33,66	0,00a	-	54,26d	74,51
	14/05/04	0,10a	2,50	0,00a	-	1,73b	7,25
	14/06/04	0,90a	40,91	0,63a	7,25	0,10a	0,68
	26/07/04	0,03a	0,19	2,70b	11,25	3,86b	8,89
Total	11/02/04	5,67a	100	8,87ab	100	14,07b	100
	22/03/04	13,80b	100	12,40b	100	72,83d	100
	14/05/04	10,16cd	100	5,60ab	100	23,90e	100
	14/06/04	22,73c	100	8,73ab	100	14,63b	100
	26/07/04	17,86bc	100	24,00c	100	43,50d	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Biofumigación.

Microbiota fusárica

Las mayores densidades se correspondieron con las parcelas en las que se reiteró la aportación de enmienda orgánica sin plástico, que en el último muestreo alcanzó niveles similares al bromuro de metilo en cuanto a la población fusárica se refiere (Gráfico CH.1.). La biofumigación sola con plantas fue el tratamiento que permitió una mayor multiplicación de *Fusarium* spp. (en este caso, en la zona entre las líneas de cultivo). Las densidades disminuyeron conforme aumentaban los años de reiteración en los que se aplicaba una cubierta de plástico.

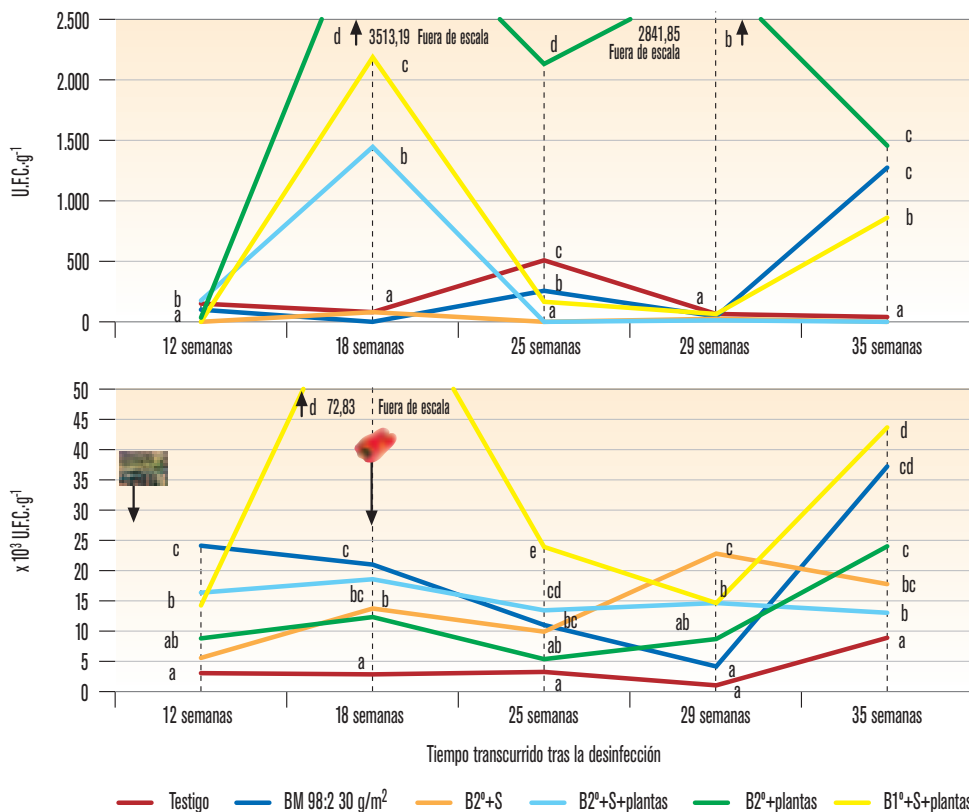
Tabla 4.CH.4. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero CH en las zonas situadas entre las dos líneas de cultivo y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 30	%	B 2 ^o +S	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	9,09a	5,88	6,89a	6,37	104,53b	60,77
	22/03/04	16,14ab	18,00	0,00a	-	0,00a	-
	14/05/04	13,14b	2,55	1,57a	0,62	0,00a	-
	14/06/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	26/07/04	0,00a	-	8,43b	0,67	0,00a	-
	<i>F. solani</i>	11/02/04	107,47c	69,49	69,73b	64,44	57,02b
22/03/04		60,51a	67,49	21,00a	100	1429,92b	100
14/05/04		497,98c	96,46	251,60b	98,35	7,79a	100
14/06/04		76,32c	100	32,74bc	82,56	31,79ab	100
26/07/04		23,28a	100	1234,15c	97,83	22,06a	100
<i>F. roseum</i>		11/02/04	38,09b	24,63	31,57b	29,18	10,44a
	22/03/04	13,00bc	14,51	0,00a	-	0,00a	-
	14/05/04	5,10a	0,99	2,63a	1,03	0,00a	-
	14/06/04	0,00a	-	6,91ab	17,44	0,00a	-
	26/07/04	0,00a	-	18,91b	1,50	0,00a	-
	Total	11/02/04	154,67b	100	108,20b	100	172,00b
	22/03/04	89,66a	100	21,01a	100	1429,93b	100
	14/05/04	516,24c	100	255,82b	100	7,80a	100
	14/06/04	76,33a	100	39,66a	100	31,80a	100
	26/07/04	23,29a	100	1261,50c	100	22,06a	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	B 2 ^o +S+pl	%	B 2 ^o +pl	%	B 1 ^o +S+pl	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	5,22a	66,62	3,51a	35,39	0,00a	-
	22/03/04	3,18a	3,64	24,494b	0,70	32,12b	1,48
	14/05/04	0,00a	-	8,63ab	0,41	0,00a	-
	14/06/04	15,64ns	57,37	4,86ns	0,17	0,00ns	-
	26/07/04	0,00a	-	9,64b	0,66	0,00a	-
	<i>F. solani</i>	11/02/04	1,76a	22,51	6,41a	64,61	4,03a
22/03/04		81,84a	93,47	3482,25d	99,12	2127,03c	97,83
14/05/04		16,40a	79,75	2096,90d	98,89	178,59b	98,45
14/06/04		5,67a	20,80	2818,60d	99,18	52,12bc	94,99
26/07/04		53,76a	94,47	1441,27c	99,33	855,36b	99,02
<i>F. roseum</i>		11/02/04	0,85a	10,87	0,00a	-	0,00a
	22/03/04	2,53ab	2,89	6,44abc	0,18	15,10c	0,69
	14/05/04	4,16a	20,25	14,91b	0,70	2,80a	1,55
	14/06/04	5,95a	21,83	18,37b	0,65	2,75a	5,01
	26/07/04	3,14a	5,53	0,09a	0,01	8,44ab	0,98
	Total	11/02/04	7,84a	100	9,93a	100	4,03a
	22/03/04	87,56a	100	3513,19d	100	2174,26c	100
	14/05/04	20,57a	100	2120,45d	100	181,40b	100
	14/06/04	27,28a	100	2841,85b	100	54,87a	100
	26/07/04	56,91a	100	1451,01c	100	863,81b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Mientras que las parcelas testigo, tuvieron las menores densidades de microbiota total, respecto a los demás tratamientos, soportaron una relativa densidad de *Fusarium*, superior incluso a las parcelas bromuradas. Cabe señalar cómo, de nuevo, tal y como sucediera en los casos comentados, las densidades de partida de *Fusarium* spp. son las mismas en todos los casos y considerablemente bajas.

Gráficos CH.1. y CH.2. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero CH en las zonas situadas entre las líneas de cultivo a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco



Densidades fúngicas en suelo húmedo

Microbiota total

En las zonas de suelo que se humedecieron, las parcelas bromuradas, permitieron una mayor multiplicación de los hongos, especialmente, del género *Penicillium* spp. (Tabla 4. CH.5.).

Las parcelas testigo y las biofumigadas sin plástico, mantuvieron menores densidades de hongos totales, sin embargo, fueron las que permitieron alojar las mayores densidades de *Fusarium* spp. (Gráfico CH.4.).

Tabla 4.CH.5. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el invernadero CH en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 30	%	B 2°+S	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	1,26a	31,67	3,46ab	6,21	24,03c	65,90
	22/03/04	2,63a	35,43	11,33b	34,07	10,26b	79,79
	14/05/04	5,16b	63,79	2,40a	9,11	4,20b	49,61
	14/06/04	3,73a	46,28	5,20ab	24,41	7,06bc	76,53
	26/07/04	9,53ab	58,13	6,70a	22,89	13,13b	75,19
<i>F. solani</i>	11/02/04	1,06b	26,67	0,06a	0,12	0,26ab	0,73
	22/03/04	1,76b	23,77	0,03a	0,10	2,06b	16,06
	14/05/04	0,70b	8,64	0,00a	0,00	2,13c	25,20
	14/06/04	1,93b	23,97	0,00a	0,00	0,26ab	2,89
	26/07/04	4,00d	24,39	0,70a	2,39	2,63c	15,08
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	1,16a	29,17	1,06a	1,91	1,83a	5,03
	22/03/04	3,03e	40,81	0,56bc	1,70	0,00a	0,00
	14/05/04	1,73c	21,40	0,86b	3,29	0,73ab	8,66
	14/06/04	2,13d	26,45	0,90b	4,23	1,63c	17,69
	26/07/04	2,06d	12,60	0,90bc	3,08	0,63b	3,63
<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,50a	12,50	51,26d	91,77	10,33c	28,34
	22/03/04	0,00a	0,00	21,33b	64,13	0,53a	4,15
	14/05/04	0,50a	6,17	23,06b	87,59	1,40a	16,54
	14/06/04	0,26a	3,31	15,20b	71,36	0,26ab	2,89
	26/07/04	0,80a	4,88	20,96b	71,64	1,06a	6,11
Total	11/02/04	4,00a	100	55,86d	100	36,46c	100
	22/03/04	7,43ab	100	33,26d	100	12,86b	100
	14/05/04	8,10ab	100	26,33d	100	8,46ab	100
	14/06/04	8,06a	100	21,30b	100	9,23a	100
	26/07/04	16,40ab	100	29,26c	100	17,46ab	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	B 2°+S+pl	%	B 2°+pl	%	B 1°+S+pl	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	11,03b	62,93	8,56b	64,74	9,96b	79,31
	22/03/04	9,26b	81,52	3,90a	89,31	16,06c	89,59
	14/05/04	10,16c	71,10	5,26b	88,76	20,93c	94,58
	14/06/04	8,83c	75,28	6,16b	50,82	28,66d	94,51
	26/07/04	11,46b	80,94	17,36c	82,70	12,46b	83,30
<i>F. solani</i>	11/02/04	1,03b	5,89	0,03a	0,25	0,33b	2,65
	22/03/04	0,50a	4,40	0,03a	0,76	0,30a	1,67
	14/05/04	1,30bc	9,09	0,10a	1,69	0,03a	0,15
	14/06/04	0,30a	2,56	5,53c	45,60	0,70a	2,31
	26/07/04	1,43b	10,12	2,76c	13,17	1,40ab	9,35

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización, B: Biofumigación.

Tabla 4.CH.5. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el invernadero CH en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B 2 ^o +S+pl	%	B 2 ^o +pl	%	B 1 ^o +S+pl	%
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	2,76b	15,78	0,73a	5,54	1,63a	13,00
	22/03/04	1,53d	13,49	0,33ab	7,63	0,93c	5,20
	14/05/04	2,00c	13,99	0,30a	5,06	0,60ab	2,71
	14/06/04	2,13d	18,18	0,26a	2,20	0,50a	1,65
	26/07/04	1,16c	8,24	0,16a	0,79	0,70b	4,68
<i>Penicillium</i>	11/02/04	2,70ab	15,40	3,90b	29,47	0,63a	5,04
	22/03/04	0,00a	0,59	0,10a	2,29	0,63a	3,53
	14/05/04	0,83a	5,83	0,26a	4,49	0,56a	2,56
	14/06/04	0,46a	3,98	0,16a	1,37	0,46a	1,54
	26/07/04	0,10a	0,71	0,70a	3,33	0,40a	2,67
Total	11/02/04	17,53b	100	13,23b	100	12,56b	100
	22/03/04	11,36b	100	4,36a	100	17,93c	100
	14/05/04	14,30bc	100	5,93a	100	22,13cd	100
	14/06/04	11,73a	100	12,13a	100	30,33c	100
	26/07/04	14,16a	100	21,00b	100	14,96a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización, B: Biofumigación.

Microbiota fusárica

Los análisis para conocer la microbiota fusárica presente en el suelo humedecido entre las líneas de cultivo de las parcelas experimentales, revelaron que las que no se desinfectaron con ningún producto, presentaron las mayores densidades en relación a las demás tesis estudiadas. Resultados muy parecidos se obtienen en los análisis de suelos que recibieron materia orgánica y no fueron sellados con plástico (Tabla 4.CH.6.).

Los suelos en los que se reiteró la biofumigación sola por segundo año y los de la biosolarización de primer año con restos de plantas también vieron aumentar sus poblaciones fusáricas con la humedad. La biosolarización sola o con restos de plantas (en menor medida) logró controlar las densidades de *Fusarium* aisladas en mayor medida que el bromuro de metilo. Al final del cultivo, no hubo diferencias significativas entre los suelos biosolarizados por segundo año con plantas, la biofumigación sola de segundo año y el testigo. Tampoco las hubo entre el bromuro de metilo y la biosolarización de segundo año sola o con plantas.

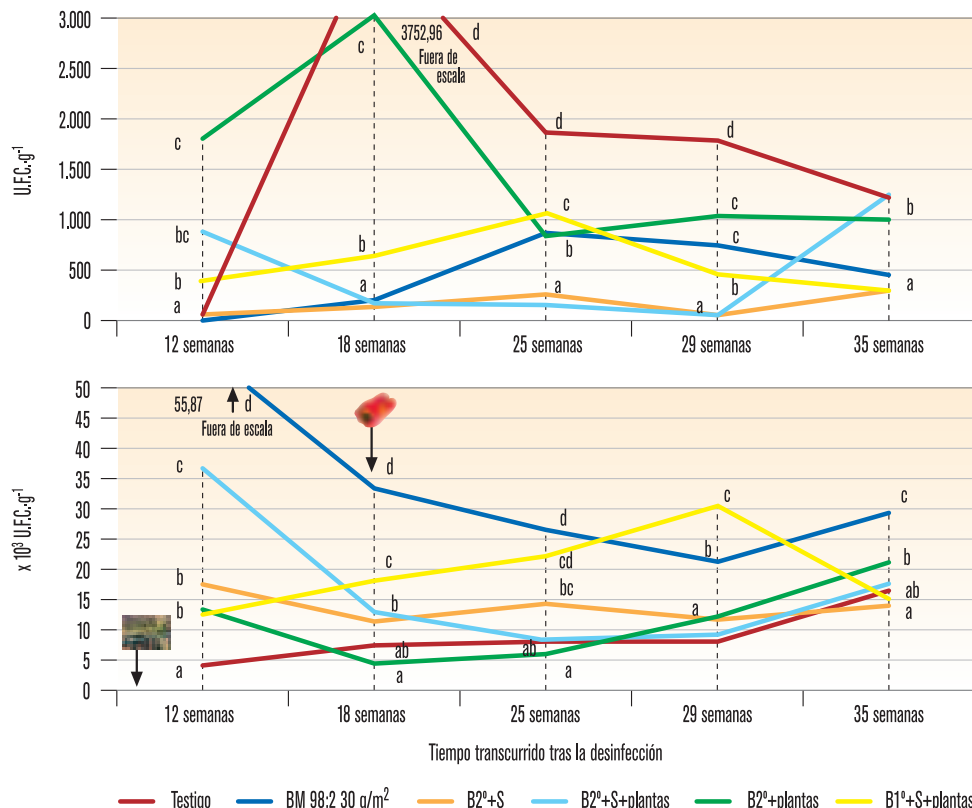
El mismo comentario realizado para el caso de las zonas de suelo seco, vuelve a repetirse en las zonas de suelo humedecidas: al poner la cubierta de plástico, se logran controlar las poblaciones fusáricas (Gráfico CH.3).

Tabla 4.CH.6. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero CH en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 30	%	B 2°+S	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	3,56a	10,65	1,30a	6,51	0,96a	1,08
	22/03/04	229,86b	6,12	65,99a	32,91	28,07a	19,50
	14/05/04	6,91ns	0,37	7,50ns	0,87	2,27ns	0,86
	14/06/04	87,10bc	4,92	92,83c	12,40	0,00a	-
	26/07/04	17,82a	1,46	31,39a	6,82	18,77a	6,24
<i>F. solani</i>	11/02/04	29,94a	89,35	18,74a	93,49	77,66a	87,05
	22/03/04	3349,15d	89,24	117,84a	58,77	53,75a	37,33
	14/05/04	1817,09c	98,28	816,14b	94,58	247,53a	92,99
	14/06/04	1560,39e	88,06	438,41c	58,58	58,22a	100
	26/07/04	1171,67b	96,01	395,63a	85,92	275,10a	91,38
<i>F. roseum</i>	11/02/04	0,00a	-	0,00a	-	10,59ab	11,87
	22/03/04	173,93c	4,63	16,68a	8,32	62,17ab	43,17
	14/05/04	24,80ab	1,34	39,24ab	4,55	16,37ab	6,15
	14/06/04	124,44cd	7,02	217,20e	29,02	0,00a	-
	26/07/04	30,89bc	2,53	33,42c	7,26	7,17ab	2,38
Total	11/02/04	33,51a	100	20,04a	100	89,22a	100
	22/03/04	3752,95d	100	200,51a	100	144,00a	100
	14/05/04	1848,81d	100	862,89b	100	266,18a	100
	14/06/04	1771,94d	100	748,45c	100	58,22a	100
	26/07/04	1220,38b	100	460,45a	100	301,05a	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	B 2°+S+pl	%	B 2°+pl	%	B 1°+S+pl	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	324,62b	36,54	55,37ab	3,11	16,70ab	4,21
	22/03/04	35,98a	19,59	38,79a	1,31	29,17a	4,51
	14/05/04	4,83ns	3,01	1,26ns	0,15	3,81ns	0,36
	14/06/04	5,99a	8,53	29,67a	2,86	31,94ab	7,04
	26/07/04	232,63b	18,66	9,63a	0,95	27,94a	9,85
<i>F. solani</i>	11/02/04	557,11b	62,70	1691,17c	95,10	375,40b	94,50
	22/03/04	114,53ab	62,36	2866,77c	96,52	531,60b	82,18
	14/05/04	92,06a	57,26	831,61b	98,58	1043,01b	98,88
	14/06/04	46,01a	65,45	948,79d	91,30	236,29b	52,10
	26/07/04	1003,65b	80,50	998,01b	98,81	251,55a	88,64
<i>F. roseum</i>	11/02/04	6,73ab	0,76	31,75b	1,79	5,15ab	1,30
	22/03/04	33,16a	18,05	64,64ab	2,18	86,12b	13,31
	14/05/04	63,88b	39,73	10,75ab	1,28	7,97a	0,76
	14/06/04	18,28ab	26,02	60,71bc	5,84	185,28c	40,85
	26/07/04	10,50ab	0,84	2,39a	0,24	4,28a	1,51
Total	11/02/04	888,47bc	100	1778,30c	100	397,26b	100
	22/03/04	183,68a	100	2970,21c	100	646,89b	100
	14/05/04	160,78a	100	843,63b	100	1054,80b	100
	14/06/04	70,29a	100	1039,18c	100	453,52b	100
	26/07/04	1246,78b	100	1010,04b	100	283,78a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Gráficos CH.3. y CH.4. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero CH en las zonas humedecidas a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10 3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco



La incidencia de *F. oxysporum* y *F. roseum* es similar para todos los tratamientos estudiados, viéndose superados siempre por *F. solani* (Tabla 4.CH.6.).

2. EFECTO DEL CULTIVO SOBRE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA AISLADA EN LA ZONA COLONIZADA POR LAS RAÍCES EN SUELOS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS

Campaña 2002/2003

Microbiota total

Siguiendo la misma línea de lo que ocurriera para la microbiota fusárica, el comportamiento de la biofumigación sola y el testigo fue muy similar a partir del tercer muestreo realizado (Tabla 4.CH.7.). El comportamiento del bromuro

Tabla 4.CH.7. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados y porcentaje respecto del total en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en 10³ U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM	%	B+S	%	B+S+pl	%	B	%
<i>Aspergillus</i>	05/12/02	1,07a	23,94	1,53a	72,85	41,83b	97,97	46,40b	91,88	0,57a	2,35
	27/01/03	0,43a	16,10	0,50a	62,50	44,07c	94,70	36,83b	79,09	0,17a	0,38
	10/03/03	0,40ns	15,38	0,70ns	14,48	0,97ns	19,33	0,77ns	20,10	0,83ns	10,34
	23/04/03	2,10a	30,75	4,77b	55,00	4,30b	50,59	5,90b	44,60	4,00b	31,25
	02/06/03	2,07a	19,58	7,20b	50,47	28,43c	78,47	5,80ab	40,36	3,77ab	27,86
	28/07/03	10,27ab	74,80	6,67a	32,41	25,65b	94,24	27,57b	92,42	10,27ab	36,51
	05/12/02	0,03a	0,67	0,23b	11,11	0,03a	0,08	0,00a	-	0,00a	-
<i>F. solani</i>	27/01/03	0,00a	-	0,00a	-	0,03a	0,07	0,33b	0,71	0,00a	-
	10/03/03	0,17ab	6,54	0,27b	5,52	0,08ab	0,67	0,10ab	2,61	0,00a	-
	23/04/03	2,13cd	31,19	1,07ab	12,31	1,57bc	18,43	0,73a	5,52	2,53d	19,77
	02/06/03	3,50c	33,11	1,47b	10,28	1,13ab	3,13	0,55a	3,69	4,10c	30,30
	28/07/03	0,43ab	3,13	1,77c	8,59	0,27a	0,98	0,93b	3,12	1,73c	6,15
	05/12/02	3,37b	75,39	0,33a	15,87	0,83a	1,95	0,43a	0,85	23,67c	97,69
	27/01/03	2,23b	83,52	0,03a	4,17	2,43b	5,23	2,37b	5,09	44,87c	99,64
<i>Rhizopus</i>	10/03/03	2,03ab	78,08	2,50b	51,72	2,47b	49,33	1,20a	31,33	7,20c	89,66
	23/04/03	2,60b	38,07	2,43ab	28,08	1,97a	23,14	4,03c	30,46	4,85c	37,73
	02/06/03	3,47b	32,83	2,90ab	20,33	3,30ab	9,11	2,80a	19,49	3,47b	25,65
	28/07/03	2,93ab	21,34	3,50b	17,02	0,17a	0,61	0,50ab	1,68	14,60c	51,90
	05/12/02	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-	3,67b	7,27	0,00a	-
	27/01/03	0,00a	-	0,27a	33,33	0,00a	-	7,03b	15,10	0,00a	-
	10/03/03	0,00a	-	1,37b	28,28	1,55b	30,67	1,77b	46,21	0,00a	-
<i>Penicillium</i>	23/04/03	0,00a	-	0,40ab	4,62	0,67bc	7,84	2,57d	19,43	1,43c	11,17
	02/06/03	1,53a	14,47	2,70ab	18,93	3,37b	9,29	5,23c	36,40	2,20ab	16,26
	28/07/03	0,10a	0,73	8,63c	41,98	1,13ab	4,17	0,83ab	2,78	1,53b	5,44
	05/12/02	4,47a	100	2,10a	100	42,70c	100	50,50c	100	24,23b	100
	27/01/03	2,67b	100	0,80a	100	46,53c	100	46,57c	100	45,02c	100
	10/03/03	2,60a	100	4,83b	100	5,00b	100	3,83ab	100	8,03c	100
	23/04/03	6,83a	100	8,67a	100	8,50a	100	13,23b	100	12,80b	100
Total	02/06/03	10,57a	100	14,27a	100	36,23b	100	14,37a	100	13,53a	100
	28/07/03	13,73a	100	20,57ab	100	27,20b	100	29,83b	100	28,13b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Biotumificación, B+S: Biosolarización, B+S+pl: Biosolarización con aportación de plantas.

de metilo frente a la microbiota fúngica aislada fue significativamente el mismo que el de las parcelas testigo, lo que cuestionaría su efectividad en este caso (Gráfico CH.6).

Las mayores proporciones de hongos detectadas, correspondieron a los géneros *Aspergillus* spp. y *Rhizopus* spp. La biosolarización sola o con restos de plantas registró altas densidades de hongos en los dos primeros muestreos que se correspondieron con la colonización por parte de *Aspergillus* spp., no diferenciándose entre sí a lo largo de los demás muestreos efectuados.

Tanto el testigo como el bromuro de metilo, apenas mostraron diferencias significativas entre sí en cuanto a la variación del número total de colonias aisladas.

En el último muestro correspondiente al final del cultivo, el bromuro de metilo, la biosolarización sola o con restos de plantas y la biofumigación sola no se diferenciaron significativamente entre sí pero sí lo hicieron respecto al testigo en donde se aislaron menores densidades de hongos.

Microbiota fusárica

En la Tabla 4.CH.8., se comprueba la similitud que presenta la biosolarización sola o con restos de plantas sobre las poblaciones fusáricas aisladas, no apreciándose diferencias significativas entre ambos tratamientos en cualquiera de los muestreos realizados.

En relación a los ensayos de biofumigación realizados en este invernadero, otros autores como KARBAUSKIENE (2000) ya habían llevado a cabo distintas investigaciones con objeto de estudiar el impacto que conlleva adicionar enmiendas orgánicas en el suelo sobre la abundancia de la microbiota en el mismo, así como la composición de las especies fúngicas en el cultivo de tomate. De las muestras de suelo tomadas de las inmediaciones de las raíces a mitad del período de recolección, encontró que la enmienda orgánica influía en la distribución de los microorganismos del suelo, teniendo un efecto positivo sobre los mismos. Asimismo, encontró una gran cantidad de microorganismos en las parcelas estercoladas con biohumus, identificando hasta 83 especies de micromicetos.

Al comparar la variación de la microbiota fusárica entre los distintos tratamientos, se observa el comportamiento similar entre las parcelas donde sólo se aportó la materia orgánica y no se solarizó y las que no se desinfectaron. Por tanto, el mismo efecto que el comentado por KARBAUSKIENE (2000) podría ser el que se da sobre la microbiota fusárica en las parcelas que recibieron únicamente el aporte de materia orgánica.

Tabla 4.CH.8. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas y porcentaje respecto del total en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

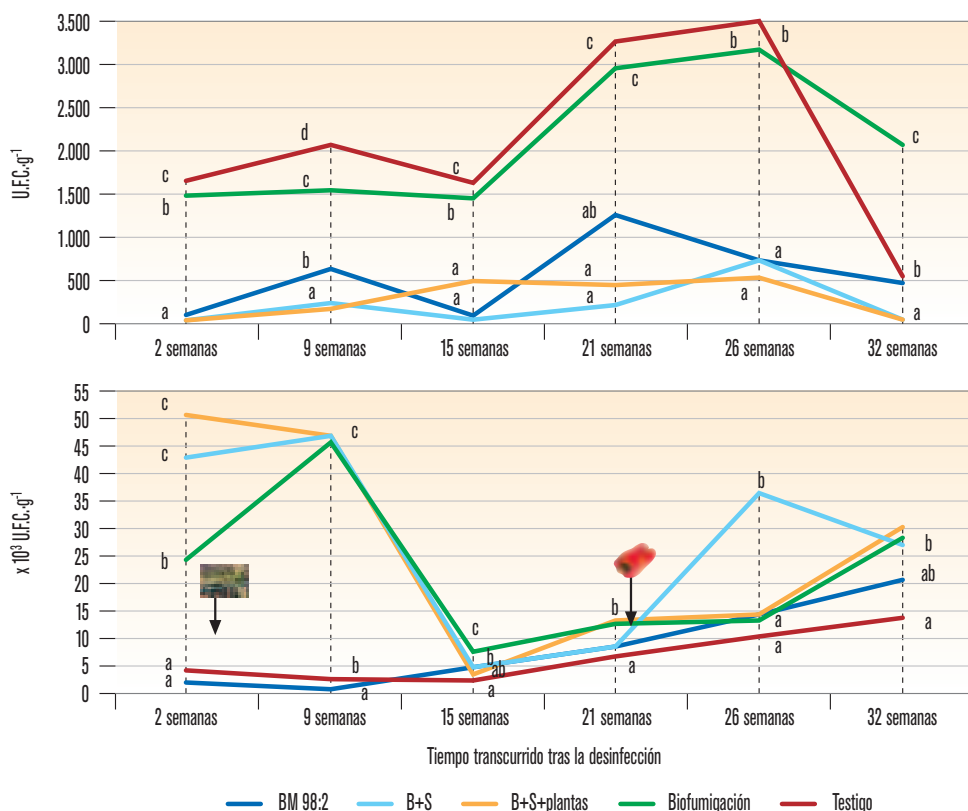
Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM	%	B+S	%	B+S+pl	%	B	%
<i>F. oxysporium</i>	05/12/02	118,85b	7,19	4,37a	3,97	4,11a	9,00	9,57a	20,24	178,12b	12,03
	27/01/03	435,17c	21,14	21,56a	3,48	9,70a	3,98	11,89a	7,06	186,99b	12,13
	10/03/03	125,42c	7,72	2,60a	2,61	3,08a	4,29	71,95b	14,40	70,71bc	4,83
	23/04/03	111,47b	3,44	57,63ab	4,60	21,90a	9,80	60,30a	13,53	26,60a	0,90
	02/06/03	302,08b	8,70	53,12a	7,26	83,30a	11,72	56,80a	10,49	119,91a	3,80
	28/07/03	16,29b	2,92	21,57b	4,48	1,23a	2,38	3,08a	4,98	99,00c	4,84
	05/12/02	1533,18c	92,81	105,99b	96,03	41,58a	91,00	37,72a	79,76	1302,93c	87,97
<i>F. solani</i>	27/01/03	1497,60c	72,76	543,03b	87,58	147,40a	60,46	85,67a	50,86	1241,95c	80,54
	10/03/03	1293,82b	79,61	97,26a	97,39	65,80a	91,56	395,00a	79,06	1344,90b	91,77
	23/04/03	3017,42c	93,07	1154,37b	92,05	167,48a	74,90	292,38a	65,59	2840,89c	96,51
	02/06/03	2952,87b	85,05	676,70a	92,49	573,62a	80,68	440,55a	81,36	2912,74b	92,26
	28/07/03	519,15b	92,91	433,90b	90,14	49,52a	95,05	52,74a	85,22	1864,98c	91,10
	05/12/02	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	0,00	0,00ns	-	0,00ns	-
	27/01/03	125,51ab	6,10	55,41a	8,94	86,69ab	35,56	70,86ab	42,07	113,13b	7,34
<i>F. roseum</i>	10/03/03	205,97d	12,67	0,00a	-	2,98ab	4,15	32,64bc	6,53	49,85c	3,40
	23/04/03	113,24c	3,49	42,05ab	3,35	34,21a	15,30	93,05bc	20,88	76,09bc	2,58
	02/06/03	217,09c	6,25	1,84a	0,25	54,08b	7,61	44,14b	8,15	124,44c	3,94
	28/07/03	23,29b	4,17	25,91b	5,38	1,34a	2,57	6,06a	9,80	83,18c	4,06
	05/12/02	1652,03c	100	110,37b	100	45,70a	100	4730a	100	1481,05c	100
	27/01/03	2058,29d	100	620,01b	100	243,79a	100	188,43a	100	1542,07c	100
	10/03/03	1625,22b	100	99,87a	100	71,87a	100	499,60a	100	1465,47b	100
Total	23/04/03	3242,14c	100	1254,06b	100	223,60a	100	445,75a	100	2943,59c	100
	02/06/03	3472,05b	100	731,67a	100	711,02a	100	541,49a	100	3157,10b	100
	28/07/03	558,75b	100	481,39b	100	52,01a	100	61,89a	100	2047,17c	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Biotumigación, B+S: Biosolarización, B+S+pl: Biosolarización con aportación de plantas.

Aunque siguen siendo escasos los estudios relacionados con la variación de los microorganismos del suelo tras los tratamientos efectuados al suelo, en los últimos años, el interés por el control de las enfermedades mediante procedimientos no químicos ha impulsado diferentes trabajos. Tal es el caso de los desarrollados por REYES *et al.* (2004a), en el que analizaron las poblaciones de *Fusarium* spp., *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. antes y después de realizar los tratamientos para controlar *Verticillium dahliae* en el olivar. Comprobaron que tanto la biosolarización como la solarización sola redujeron las poblaciones de esos hongos respecto al testigo, mientras que la biofumigación sola incrementó rápidamente las poblaciones de aquellos organismos con alta capacidad saprofitaria. Similares comentarios podrían realizarse por tanto para con la microbiota fusárica en este invernadero.

El efecto del bromuro de metilo sobre la microbiota fusárica se situó entre la biofumigación con solarización sola o con restos de plantas y el testigo y la biofumigación sola (Gráfico CH.5.).

Gráficos CH.5. y CH.6. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero CH a lo largo de la campaña 2002/2003, expresado en U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10 3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco



Las diferencias entre los distintos tratamientos se mantuvieron desde el primero hasta el último de los muestreos, donde *F. solani* fue la especie predominante en todos los análisis efectuados. Cabe destacar sobre todo, el control que el plástico efectuó sobre la población fusárica en las parcelas biosolarizadas (con o sin restos de plantas), respecto a la biofumigación sola, mejorando incluso el control ejercido por el bromuro de metilo (aunque fueron los que permitieron una mayor multiplicación y diversidad de microbiota total).

Tal y como se observa en los dos gráficos anteriores, mientras que para el caso de la microbiota fúngica total medida la biosolarización sola o con restos de plantas tuvo un comportamiento similar, a la par que la biofumigación sola, cuando se trató de aislar las poblaciones fusáricas, estas fueron controladas solo cuando se colocó una cubierta de plástico al suelo, con la misma eficacia que el bromuro de metilo.

Campaña 2003/2004

Microbiota total

Como ya ocurriera para la microbiota fusárica, los análisis de muestras de suelo procedentes de parcelas que habían sido biofumigadas por segundo año y posteriormente solarizadas, sin restos de plantas y las de primer año con restos de plantas guardaron cierta similitud y no presentaron diferencias significativas entre ellos, salvo el último muestreo (Tabla 4.CH.9.; Gráfico CH.8.).

De la misma forma que la respuesta de las parcelas biofumigadas por segundo año y las testigo frente a la microbiota fúngica total aislada no se diferenció entre sí en las zonas humedecidas o secas, en la próxima a las raíces volvió a suceder lo mismo.

Al examinar los resultados obtenidos, se comprueba que, como ya ocurriera también en la campaña de cultivo anterior (Gráfico CH.6.), a los tratamientos de biosolarización les llevó unas 12 semanas alcanzar los bajos niveles de las parcelas control, asemejándose así a las observaciones que realizaran PORTER *et al.* (2005) en donde ellos indicaban unas siete semanas tras la desinfección en cultivos de fresa.

La gran multiplicación de *Aspergillus* spp. tras la desinfección mediante biosolarización (Tabla 4.CH.10.), podría venir explicada por el razonamiento realizado por REYES *et al.* (2004b). En él, aseguran que el estudio de las poblaciones de los géneros citados como *Fusarium* spp., *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. ha sido útil para demostrar el efecto desinfectante de la biosolarización sobre los microorganismos del suelo en un primer momento. Tras la retirada de los plásticos, el elevado contenido en materia orgánica de estos suelos permite que se desarrollen rápidamente aquéllos microorganismos especializados en descomponer la

Tabla 4.CH.9. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo de invernadero CH y porcentaje respecto del total en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 98.2	%	B 2 ⁺ +S	%	B 2 ⁺ +S+ plantas	%	B 2 ⁺ + plantas	%	B 1 ⁺ +S+ plantas	%
<i>Aspergillus</i>	22/12/03	8.63b	76.85	1.27a	39.58	1.20a	62.07	1.40a	50.00	1.90a	54.81	1.33a	45.98
	11/02/04	8.23a	75.54	4.63a	15.98	21.87b	58.26	8.40a	14.50	6.00a	59.80	31.00b	89.68
	22/03/04	2.70a	57.45	5.00a	6.73	20.40b	89.93	4.70a	59.24	3.60a	49.54	22.33b	91.03
	14/05/04	0.88a	16.78	3.13ab	46.77	23.43c	75.51	4.43b	22.97	3.00ab	36.00	19.77c	84.84
	14/06/04	2.23ab	56.30	1.83ab	52.38	14.37c	47.47	1.57a	13.82	3.37b	53.72	25.97d	95.82
	26/07/04	22.13c	80.29	2.13a	52.03	6.17ab	89.37	8.33b	71.23	6.17b	68.52	33.90d	85.39
	22/12/03	0.33ab	2.97	0.00a	-	0.00a	-	0.40ab	14.29	0.60b	17.31	0.53b	18.39
<i>F. solani</i>	11/02/04	0.33a	3.06	0.00a	-	15.30b	40.76	0.07a	0.12	0.43a	4.32	0.13a	0.39
	22/03/04	0.00a	0.00	0.80c	1.08	0.67bc	2.84	0.07a	0.84	0.27ab	3.67	0.00a	-
	14/05/04	0.73ab	14.77	0.27a	3.98	1.60b	5.16	14.07c	72.88	2.03b	24.40	0.10a	0.43
	14/06/04	0.07a	1.68	0.00a	-	15.60c	51.54	9.47b	83.53	0.23a	3.72	0.10a	0.37
	26/07/04	2.20b	7.98	0.47a	11.38	0.47a	6.76	1.67b	6.78	1.67b	18.52	4.20c	10.58
	22/12/03	1.00a	8.90	1.80b	56.25	0.53a	27.59	0.77a	27.38	0.97a	27.88	1.03a	35.63
	11/02/04	1.07ab	9.79	1.80c	6.21	0.37a	0.98	1.70bc	2.01	3.60d	35.88	1.20bc	3.47
<i>Rhizopus</i>	22/03/04	1.93bc	41.13	0.13a	0.18	1.23b	5.26	2.37c	29.83	3.27d	44.95	1.60b	6.52
	14/05/04	3.23d	65.10	2.10c	31.34	0.63a	1.72	0.33a	1.73	3.17d	38.00	1.30b	5.58
	14/06/04	1.30b	32.77	1.30b	37.14	0.07a	0.22	0.17a	1.47	2.67c	42.55	0.07a	0.25
	26/07/04	2.23c	8.10	1.27b	30.89	0.23a	3.38	1.27b	10.83	0.93b	10.37	0.13a	0.34
	22/12/03	1.27b	11.28	0.13a	4.17	0.20a	10.34	0.23a	8.33	0.00a	-	0.00a	-
	11/02/04	1.27a	11.62	22.57b	77.82	0.00a	-	48.30c	83.37	0.00a	-	2.23a	6.46
	22/03/04	0.07a	1.42	68.37b	92.01	1.17a	4.97	0.80a	10.08	0.13a	1.83	0.60a	2.45
<i>Penicillium</i>	14/05/04	0.17a	3.36	1.20ab	17.91	5.47c	17.62	0.42	2.42	0.13a	1.60	2.13b	9.16
	14/06/04	0.37a	9.24	0.37a	10.48	0.23a	0.77	0.13a	1.18	0.00a	-	0.97b	3.57
	26/07/04	1.00bc	3.63	0.23ab	5.69	0.03a	0.48	1.33c	11.40	0.23ab	2.59	1.47c	3.69
	22/12/03	11.23c	100	3.20b	100	1.93a	100	2.80ab	100	3.47b	100	2.90ab	100
	11/02/04	10.90a	100	29.00b	100	37.53bc	100	57.93c	100	10.03a	100	34.57bc	100
	22/03/04	4.70a	100	74.30c	100	23.47b	100	7.93a	100	7.27a	100	24.53b	100
	14/05/04	4.97a	100	6.70a	100	31.03c	100	19.30b	100	8.33a	100	23.30bc	100
Total	14/06/04	3.97a	100	3.50a	100	30.27d	100	11.33c	100	6.27b	100	27.10d	100
	26/07/04	25.57d	100	4.10a	100	6.90ab	100	11.70c	100	9.00bc	100	39.70e	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0.05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0.5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Biotumificación, B+S: Biosolarización, B+S+pl: Biosolarización con aportación de plantas.

materia orgánica (en este caso, *Aspergillus* spp.) de forma que se activa la defensa natural de los suelos frente a los patógenos de plantas.

Microbiota fusárica

Al igual que ocurriera en la campaña precedente y bajo las condiciones de humedad ya comentadas para la campaña 2003/2004, la biofumigación sola reiterada por segundo año consecutivo con restos de plantas fue la que peor control efectuó sobre las poblaciones fusáricas, siguiéndole en la misma tendencia pero en menor cantidad las parcelas bromuradas y las que no fueron desinfectadas (Tabla 4.CH.10. y Gráfico CH.7). Aunque la biosolarización reiterada por segundo año logró controlar a lo largo del cultivo las especies presentes, en el último muestreo, no mostró diferencias significativas respecto al bromuro de metilo, en donde la densidad presente de *Fusarium* spp. se multiplicó considerablemente.

Gráficos CH.7 y CH.8. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero CH a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10 3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco

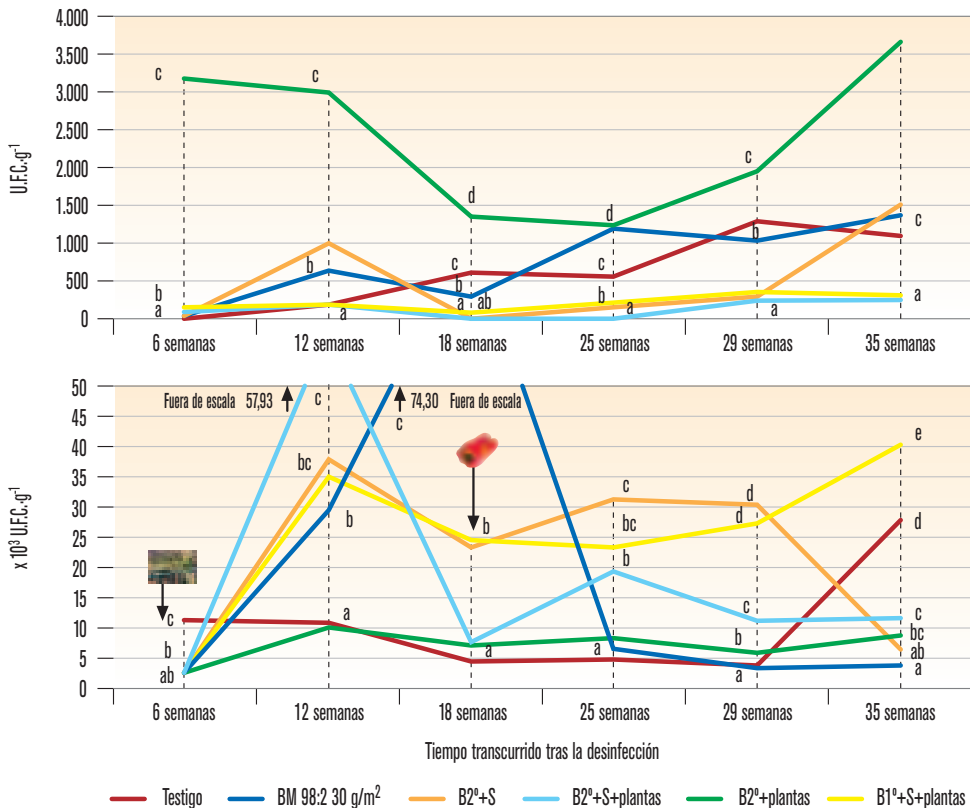


Tabla 4.CH.10. Variación de la densidad de los distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas y porcentaje de cada una respecto del total en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 98-2	%	B 2 ⁺ +S	%	B 2 ⁺ +S+ plantas	%	B 2 ⁺ + plantas	%	B 1 ⁺ +S+ plantas	%
<i>F. oxysporum</i>	22/12/03	0,00a	-	0,84a	3,50	98,33ab	93,15	13,45a	79,63	191,38b	6,06	63,18ab	46,38
	11/02/04	4,83a	2,67	14,82a	2,35	297,86b	30,44	128,79ab	66,30	69,30ab	2,33	13,60a	7,00
	22/03/04	60,23c	9,73	11,96ab	3,97	4,35a	16,51	5,15a	21,57	56,64c	4,22	34,52bc	36,66
	14/05/04	45,69b	8,12	10,03a	0,85	25,42a	15,87	0,00a	-	0,92a	0,07	0,00a	-
	14/06/04	52,66b	4,14	32,49ab	3,15	7,13a	2,41	5,95a	2,32	84,64c	4,38	65,08bc	20,70
	26/07/04	93,27b	8,50	37,21a	2,74	20,01a	1,35	22,80a	8,40	28,41a	0,79	18,71a	5,92
	22/12/03	25,76b	100	23,14b	96,50	3,12a	2,95	3,44a	20,36	2931,09d	6,06	67,90c	46,38
<i>F. solani</i>	11/02/04	171,74ab	94,92	529,23c	83,91	484,97bc	49,55	65,45a	33,70	2804,22d	94,34	146,19ab	75,24
	22/03/04	505,67c	81,68	275,89b	91,63	12,88a	48,82	18,75a	78,43	1230,33d	91,63	25,75a	27,35
	14/05/04	498,24c	88,51	1107,22d	93,57	67,56a	42,18	21,50a	100	1151,65d	93,30	174,69b	83,82
	14/06/04	1015,64c	79,78	910,94c	88,26	205,52b	69,32	48,84a	19,06	1754,85d	90,83	226,49b	72,02
	26/07/04	978,61bcd	89,17	1255,02cd	92,53	1450,55abc	97,78	224,32a	82,60	3547,36d	98,30	292,24ab	92,50
	22/12/03	0,00a	-	0,00a	-	4,10ab	-	0,00a	3,88	34,78b	1,10	5,14ab	3,77
	11/02/04	4,34a	2,40	86,67b	13,74	195,83c	20,01	0,00a	-	98,93bc	3,33	34,51ab	17,76
<i>F. roseum</i>	22/03/04	53,19c	8,59	13,22ab	4,39	9,14ab	34,67	0,00a	-	55,8c	4,16	33,88bc	35,99
	14/05/04	18,99ab	3,37	66,02bc	5,68	67,17bc	41,94	0,00a	-	81,84c	6,63	33,73ab	16,18
	14/06/04	204,76c	16,08	88,65ab	8,59	83,81ab	28,27	201,45bc	78,62	92,58bc	4,79	22,89a	7,28
	26/07/04	25,59a	2,33	64,09b	4,73	12,90a	0,87	24,44a	9,00	32,97a	0,91	4,98a	1,58
	22/12/03	25,76a	100	23,98a	100	105,55b	100	16,89a	100	13157,24c	100	136,22b	100
	11/02/04	180,92a	100	630,73b	100	978,68b	100	194,21a	100	2972,46c	100	194,31a	100
	22/03/04	619,10c	100	301,09b	100	26,38a	100	23,91a	100	1342,79d	100	94,16ab	100
Total	14/05/04	562,93c	100	1183,28d	100	160,15b	100	21,50a	100	1234,41d	100	208,42b	100
	14/06/04	1273,06b	100	1032,09b	100	296,47a	100	256,25a	100	1932,08c	100	314,48a	100
	26/07/04	1097,48bc	100	1356,33bc	100	1483,47ab	100	271,57a	100	3608,65d	100	315,93a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Bionfumigación, B+S: Biosolarización, B+S+pl: Biosolarización con aportación de plantas.

En cuanto a la progresión del inóculo en las inmediaciones de las raíces de las plantas, guardaron la misma proporción la biofumigación de segundo año con plástico con o sin restos de plantas y la biofumigación de primer año con plástico y sin restos de plantas (Tabla 4.CH.10.).

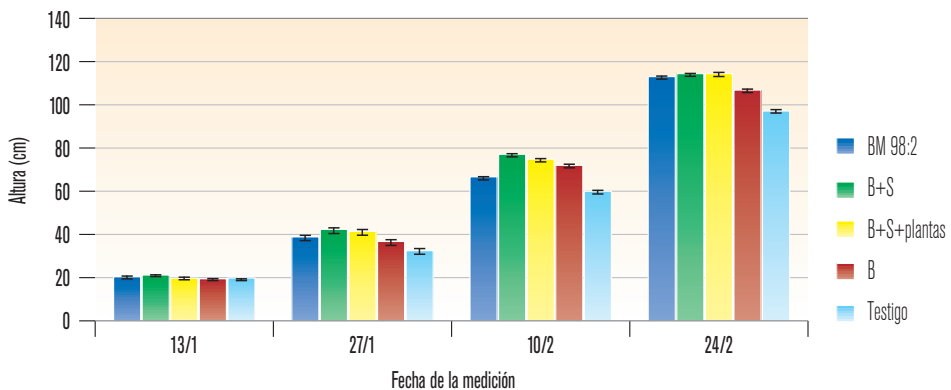
Como ya se había comentado para la campaña anterior, los tratamientos de biofumigación a los que se les colocó un plástico para solarizar, permitieron un mayor crecimiento de los hongos en general pero un mejor control sobre los *Fu-saria* en particular (Gráfico CH.7.).

3. EL EFECTO DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DEL SUELO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO DE LAS PLANTAS Y LA PRODUCCIÓN

Campaña 2002/2003

De los ensayos realizados en el invernadero experimental CH para conocer el desarrollo vegetativo de las plantas, se extraen los siguientes resultados, tal y como se observa en el Gráfico CH.9.: no hubo diferencias significativas entre la altura de las plantas de parcelas biosolarizadas (con o sin restos de plantas) y la de parcelas bromuradas.

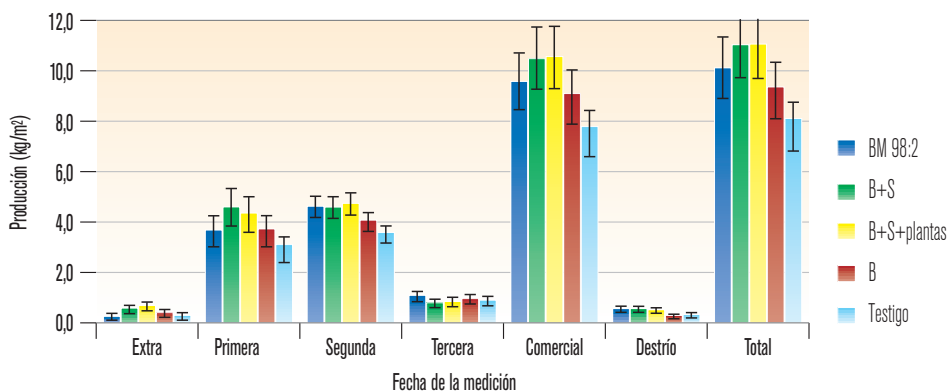
Gráfico CH.9. Variación de la altura de las plantas en el Invernadero CH. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x)$



Tanto la realización de las biosolarizaciones, con o sin restos de plantas, como la aplicación del bromuro de metilo permitieron obtener plantas significativamente más altas que aquellas que se desarrollaron sobre suelo biofumigado o sin tratar.

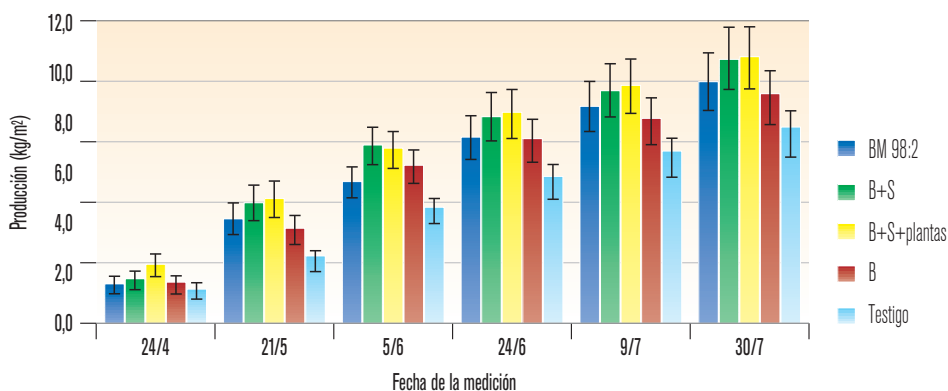
Prestando especial atención a los dos últimos tratamientos referidos, biofumigación sola y testigo, y en relación a la flora fusárica aislada durante esa campaña (Gráfico CH.5.), se podría especular si se debería a esa presión de inóculo ejercida en el suelo de dichas parcelas, la ralentización del crecimiento vegetativo.

Gráfico CH.10. Producción comercial media acumulada en el Invernadero CH. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



Todos los ensayos efectuados en el invernadero experimental CH, permitieron obtener producciones significativamente superiores al testigo (a excepción de las parcelas que fueron solamente biofumigadas) y a su vez, ninguno se diferenció del bromuro de metilo (si exceptuamos al testigo). Asimismo, se com-

Gráfico CH.11. Producción media acumulada por categorías comerciales en el Invernadero CH. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



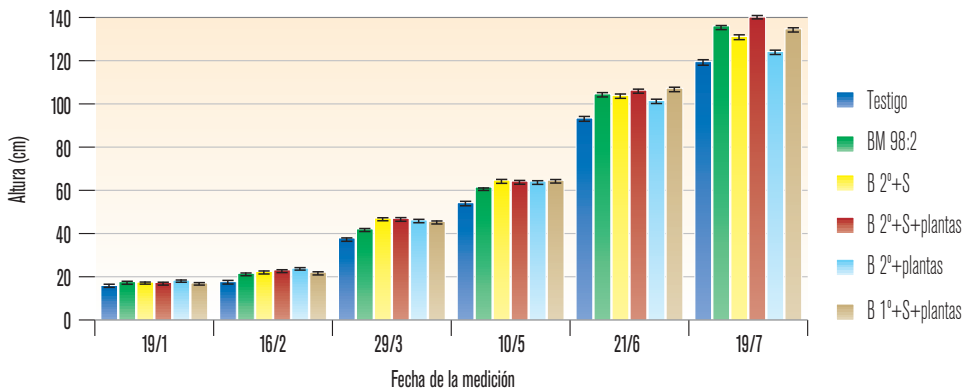
prueba que la adición de restos de plantas no afecta a la producción obtenida al final del cultivo.

La observación realizada en relación al crecimiento de las plantas al final del cultivo, también podría servir para explicar el descenso de la producción en las parcelas biofumigadas y/o que no recibieron ningún tratamiento, aunque las parcelas biofumigadas produjeron más que las testigo sin tratar.

Campaña 2003/2004

En el Gráfico CH.12., cabe señalar que las plantas de las parcelas que no recibieron ningún tratamiento comenzaron a morirse a comienzos de primavera, por lo que se descartó seguir midiendo el testigo. Al final de la campaña, éstos fueron los resultados obtenidos: hubo diferencias significativas cuando se colocó una lámina de plástico sobre suelo biofumigado por segunda vez consecutiva con restos de plantas (plantas más desarrolladas) frente al que no la tenía. A su vez, no hubo diferencias significativas entre la altura de las plantas que se desarrollaron sobre suelo biofumigado por segunda vez y solarizado, ya fuera con restos de plantas o no.

Gráfico CH.12. Variación de la altura de las plantas en el Invernadero CH. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x)$



De nuevo, se da la circunstancia de que aquellas parcelas que alojaron plantas cuyo desarrollo vegetativo se vio reducido coincide con las que acumularon mayores densidades de *Fusarium* (Gráfico CH.7) y a su vez, las que menores producciones tuvieron (Gráfico CH.13.).

El comentario anterior referido a la altura alcanzada por las plantas, se hace más acusado al estimar la producción obtenida al final de la campaña de cultivo (Gráfico CH.13.), puesto que no hubo diferencias en la aportación de restos de plantas del cultivo anterior sobre suelo biofumigado y con posterior colocación de lámina de plástico. Tampoco hubo diferencias en cuanto a la reiteración de dicha biofumigación.

Cabe destacar que cualquiera de los tratamientos que incluían la combinación de la biofumigación con la solarización rindieron significativamente más que el bromuro de metilo o la biofumigación sola sin el plástico. Claramente, todos los tratamientos produjeron más que el testigo.

Gráfico CH.13. Producción comercial media acumulada en el Invernadero CH. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$

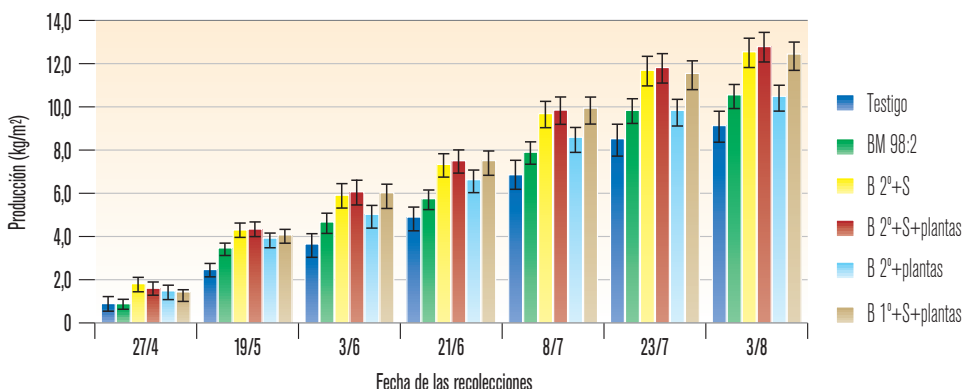
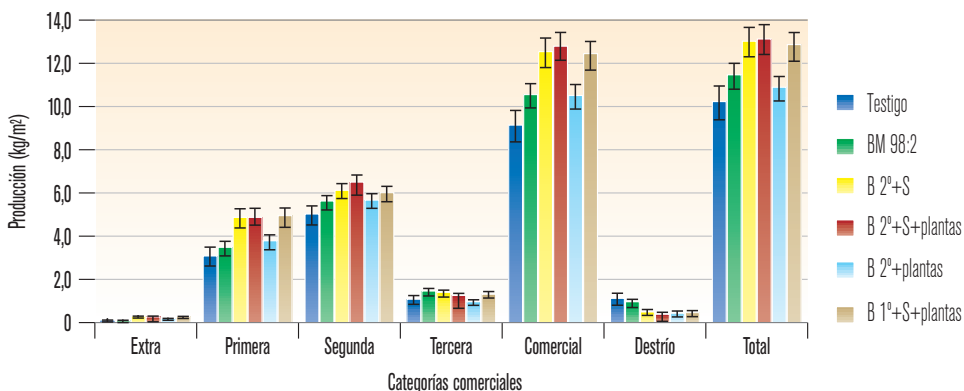


Gráfico CH.14. Producción media acumulada por categorías comerciales en el Invernadero CH. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



Tal y como se aprecia en el Gráfico CH.13, destacan las primeras recolecciones en donde todas las combinaciones realizadas con la biofumigación, ya fuera con o sin plástico, con restos de plantas o sin ellos, produjeron significativamente más que el bromuro de metilo y el testigo. En relación a la calidad del fruto obtenido, aquellas plantas que se desarrollaron sobre suelos biofumigados y posteriormente solarizados (con o sin restos de plantas), produjeron frutos significativamente mejor conformados que los demás tratamientos, especialmente que el bromuro de metilo y el testigo (con mayor cantidad destinada al destrío comercial).

INVERNADERO E

1. EFECTO DEL HUMEDECIMIENTO DEL SUELO DURANTE EL CULTIVO SOBRE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA AISLADA EN SUELOS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS

Una vez más se comprueba la influencia de la materia orgánica añadida al suelo, puesto que fue capaz de promover la rápida colonización del suelo situado entre las líneas de cultivo por parte de los hongos. El mismo motivo pudiera ser el que provocase que en este invernadero, las parcelas testigo hayan tenido mayor densidad de hongos en las zonas de suelo que no recibieron agua intencionadamente, debido a la cercanía de estas parcelas con las biosolarizadas reiteradamente (Tabla 4.E.1.).

Aspergillus spp. y *Penicillium* spp. fueron las especies más representativas de los aislamientos realizados.

Por otro lado, los mayores niveles de inóculo se dieron en las zonas de suelo comprendidas entre las líneas de cultivo.

Las mayores densidades de *Fusarium* spp. se aislaron de las zonas de suelo que recibieron humedad, ya fuera mediante el ramal de la línea de cultivo, ya mediante el que se dispuso en la zona entre las líneas de cultivo (Tabla 4.E.2.). No hubo distinción entre los tratamientos de reiteración de la biosolarización, pues el comportamiento fue similar: la zona (digamos "seca") fue la que menos densidad fusárica tuvo.

Como ha ocurrido en todos los invernaderos y campañas, la especie fusárica mayoritariamente fue *F. solani*.

Tanto las parcelas testigo como las bromuradas permitieron una mayor multiplicación de los *Fusarium* spp. en las zonas humedecidas a expensas de la influencia de la planta.

Tabla 4.E.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo			BM 99:2			BIOF 2º AÑO		
		Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido
<i>Aspergillus</i>	09/02/04	8,90a	19,43b	10,76a	4,10a	4,06a	21,16b	62,53b	88,30c	38,70a
	22/03/04	1,16a	7,36b	9,63b	1,03a	1,16a	4,10b	7,06a	56,10b	8,90a
	03/05/04	8,10b	1,80a	7,50b	2,56b	0,00a	9,36c	19,46b	0,31a	43,70c
	14/06/04	14,03b	2,16a	14,03b	6,86b	0,73a	6,86b	32,00b	16,10a	32,00b
	26/07/04	25,10c	13,00b	6,10a	13,83b	14,26b	6,40a	3,65a	139,50c	15,93b
<i>F. solani</i>	09/02/04	0,40ns	0,76ns	0,36ns	0,30ns	0,30ns	0,40ns	0,06a	1,66b	2,86b
	22/03/04	0,10ns	0,06ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,00ns	0,03a	0,70b	0,30a
	03/05/04	0,00a	0,00a	0,33b	0,10a	0,83b	0,33ab	0,00ns	0,00ns	0,00ns
	14/06/04	0,00a	0,23b	0,00a	1,53b	0,03a	1,53b	0,03ns	0,03ns	0,03ns
	26/07/04	0,40b	1,06c	0,10a	1,63b	0,86a	0,36a	1,65b	1,70b	0,10a
<i>Rhizopus</i>	09/02/04	0,90b	0,63ab	0,23a	0,46ns	0,26ns	0,16ns	0,50b	0,06a	0,00a
	22/03/04	0,00ns	0,06ns	0,06ns	0,03ns	0,03ns	0,06ns	0,00ns	0,03ns	0,00ns
	03/05/04	0,03a	0,53b	0,13a	0,20ns	0,16ns	0,23ns	0,00a	0,86b	0,00a
	14/06/04	0,43a	1,30b	0,43a	0,13a	0,60b	0,13a	0,03a	0,53b	0,03a
	26/07/04	0,00a	0,93b	0,10a	0,00ns	0,10ns	0,06ns	0,25b	0,03ab	0,00a
<i>Penicillium</i>	09/02/04	0,60ab	33,00b	0,10a	1,66a	163,00c	7,70b	0,36a	104,00b	0,00a
	22/03/04	0,10a	92,00c	7,56b	0,23a	8,00b	0,66a	0,03a	12,00b	0,36ab
	03/05/04	0,06a	14,00b	0,00a	4,80a	7,00b	0,00a	0,00a	15,00b	2,20a
	14/06/04	0,17ns	0,00ns	0,16ns	4,00a	332,00b	4,00a	0,06ns	0,00ns	0,06ns
	26/07/04	1,70b	1,00a	0,16a	0,03a	724,00c	1,86b	0,20a	184,00b	0,43a
Total	09/02/04	10,80a	53,83b	11,46a	6,53a	167,83c	29,43b	63,46b	194,03c	41,56a
	22/03/04	1,36a	99,50b	17,26b	1,30a	9,20b	4,83a	7,13a	68,83b	9,56a
	03/05/04	8,20a	16,33b	7,96a	7,66a	8,00a	9,93b	19,46b	16,17a	45,90c
	14/06/04	14,63b	3,70a	14,63b	12,53a	337,37b	12,53a	32,13b	16,67a	32,13b
	26/07/04	27,20c	16,00b	6,46a	15,50b	739,23c	8,70a	5,75a	325,23c	16,46b

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.E.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero CH a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BIOF 4º AÑO			BIOF 5º AÑO			BIOF 6º AÑO		
		Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido
<i>Aspergillus</i>	09/02/04	50,53a	15,23b	6,96a	27,16a	33,70b	15,43a	10,40a	15,23b	6,96a
	22/03/04	8,33b	21,90b	2,50a	19,63b	7,86b	2,73a	17,10b	21,90b	2,50a
	03/05/04	62,56c	8,20a	8,93a	4,47a	11,47b	10,23b	10,93b	8,20a	8,93a
	14/06/04	22,83b	8,70ns	11,23ns	26,76ns	18,96ns	26,76ns	11,23ns	8,70ns	11,23ns
	26/07/04	17,43c	38,00c	8,96a	24,03b	0,10a	17,66b	30,80b	38,00c	8,96a
<i>F. solani</i>	09/02/04	0,00ns	0,73b	0,16a	0,20b	0,10ab	0,00a	0,20a	0,73b	0,16a
	22/03/04	0,00ns	0,20b	0,06ab	0,13a	0,00a	1,76b	0,00a	0,20b	0,06ab
	03/05/04	0,00a	0,00ns	0,00ns	0,40	0,07	0,30	0,00ns	0,00ns	0,00ns
	14/06/04	0,06ns	0,00ns	0,23ns	0,30ns	0,06ns	0,30ns	0,23ns	0,00ns	0,23ns
	26/07/04	1,60a	0,16a	2,33b	1,60b	0,10a	0,23b	0,23a	0,16a	2,33b
<i>Rhizopus</i>	09/02/04	0,03ns	0,73b	0,10a	1,03b	0,10a	0,10a	0,36ab	0,73b	0,10a
	22/03/04	0,00ns	0,33b	0,00a	0,03a	0,80b	0,00a	0,10ab	0,33b	0,00a
	03/05/04	0,20b	0,70b	0,03a	0,06ns	0,00ns	0,03ns	0,43ab	0,70b	0,03a
	14/06/04	0,46ns	0,53b	0,20a	0,13ns	0,03ns	0,13ns	0,20a	0,53b	0,20a
	26/07/04	0,26b	0,46b	0,00a	0,83b	0,00a	0,13a	0,00a	0,46b	0,00a
<i>Penicillium</i>	09/02/04	0,06ns	18,00b	5,46a	1,36b	32,00b	0,06a	0,30a	18,00b	5,46a
	22/03/04	0,23a	1206,00c	0,16a	0,30a	364,00b	0,00a	24,70b	1206,00c	0,16a
	03/05/04	0,73ns	12,00c	0,00a	0,43ns	0,00ns	0,00ns	0,73b	12,00c	0,00a
	14/06/04	0,30b	18,00b	0,36a	0,160a	7,00b	0,60a	0,36ab	18,00b	0,36a
	26/07/04	0,06a	13,00b	0,00a	0,06a	22,00b	0,03a	0,06a	13,00b	0,00a
Total	09/02/04	50,63a	34,70b	12,70a	29,76b	65,90b	15,60a	11,26a	34,70b	12,70a
	22/03/04	8,56a	1228,43c	2,73a	20,10b	372,67c	4,50a	41,90b	1228,43c	2,73a
	03/05/04	63,50b	20,90b	8,96a	5,36a	11,53b	10,56b	12,10ab	20,90b	8,96a
	14/06/04	23,66b	27,23b	12,03a	27,80ns	26,07ns	27,80ns	12,03a	27,23b	12,03a
	26/07/04	19,36c	51,63c	11,30a	26,53ab	40,70b	18,06a	31,10b	51,63c	11,30a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.E.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp aisladas en el suelo del invernadero E a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo			BM 99:2			BIOF 2º AÑO				
		Raíces		Humedecido	Raíces		Seco	Humedecido	Raíces		Seco	Humedecido
		Seco	Humedecido	Seco	Humedecido	Seco	Humedecido	Seco	Humedecido	Seco	Humedecido	
<i>F. oxysporum</i>	09/02/04	21,47b	15,32ab	0,00a	137,15b	10,97ab	0,00a	10,72b	0,00a	10,72b	0,00a	
	22/03/04	33,45a	205,70b	9,47a	0,00a	3,82b	0,00ns	6,31ns	0,00ns	6,31ns	2,32ns	
	03/05/04	26,03ns	278,9ns	180,27b	0,00a	22,10a	199,73b	23,54a	199,73b	23,54a	8,62a	
	14/06/04	31,22b	15,03ab	5,77a	1,92a	41,35b	1,71a	2,81a	1,71a	2,81a	45,51b	
	26/07/04	26,30a	92,14a	103,26b	0,00a	5,21a	118,09b	0,00a	0,00a	118,09b	12,88a	
<i>F. solani</i>	09/02/04	412,37b	528,72b	129,41ns	114,78ns	81,67ns	2,12a	112,17b	2,12a	112,17b	5,49a	
	22/03/04	273,46a	1013,19b	227,04b	19,67a	239,45b	5,38a	9,12a	5,38a	9,12a	283,72b	
	03/05/04	310,64a	329,71a	1400,95c	108,82a	364,67b	100,90b	4,25a	100,90b	4,25a	88,34ab	
	14/06/04	209,79ns	236,50ns	10,66a	37,36a	713,06b	5,10a	2,81a	5,10a	2,81a	36,70b	
	26/07/04	401,18a	901,12ab	612,77b	135,29a	459,37b	314,43b	256,33ab	314,43b	256,33ab	92,22a	
<i>F. roseum</i>	09/02/04	29,18ns	8,07ns	2,08ns	8,28ns	1,86ns	0,00a	36,85b	0,00a	36,85b	0,00a	
	22/03/04	1,56ns	8,44ns	11,45b	0,00a	2,10ab	13,70b	2,54a	13,70b	2,54a	17,61b	
	03/05/04	5,27ns	8,07ns	21,10b	0,00a	4,90a	0,65a	14,76ab	0,65a	14,76ab	19,32b	
	14/06/04	27,71b	18,59ab	6,53ns	1,78ns	14,20ns	7,32ns	17,08ns	7,32ns	17,08ns	8,71ns	
	26/07/04	0,00a	12,88ab	0,00ns	1,16ns	1,78ns	0,00a	6,03a	0,00a	6,03a	33,32b	
Total	09/02/04	463,03b	552,12b	131,49ns	260,22ns	94,51ns	2,12a	159,76b	2,12a	159,76b	5,49a	
	22/03/04	308,48a	1227,34b	247,96b	19,67a	279,38b	19,07a	17,98a	19,07a	17,98a	303,66b	
	03/05/04	341,95a	365,68a	1602,33c	108,82a	391,69b	301,29b	42,57a	301,29b	42,57a	116,29a	
	14/06/04	288,72ns	270,13ns	22,97a	41,06a	768,62b	14,14a	22,71a	14,14a	22,71a	90,92b	
	26/07/04	427,49a	1006,16b	716,04b	136,46a	466,37b	432,52b	262,36a	432,52b	262,36a	138,42a	

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.E.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp aisladas en el suelo del invernadero E a lo largo de la campaña 2003/2004 en las tres situaciones estudiadas, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BIOF 4º AÑO			BIOF 5º AÑO			BIOF 6º AÑO		
		Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido	Raíces	Seco	Humedecido
<i>F. oxysporum</i>	09/02/04	2,19ns	1,10ns	0,00ns	2,69ns	5,63ns	34,80ns	3,77ns	0,00ns	0,00ns
	22/03/04	2,08a	128,41b	7,72a	11,39a	20,83ab	67,75b	30,74b	2,37a	21,72ab
	03/05/04	70,35b	3,38a	2,44a	231,90b	12,11a	11,94a	164,70b	0,00a	60,66b
	14/06/04	3,98ns	2,47ns	1,47ns	40,34b	0,00a	26,68ab	1,83a	0,00a	131,39b
	26/07/04	16,58ns	11,02ns	4,93ns	81,65b	3,85a	3,62a	76,49b	20,70a	1,33a
<i>F. solani</i>	09/02/04	63,67b	1,98a	17,63ab	2,21a	11,69a	124,73b	23,06ns	7,74ns	7,06ns
	22/03/04	40,01a	94,80b	83,20ab	14,09a	158,16b	94,39ab	0,00a	21,93b	33,50b
	03/05/04	13,81a	1,73a	35,47b	1205,18b	99,37a	82,95a	39,00a	166,83ab	208,52b
	14/06/04	2,91a	13,01b	2,91a	13,08ns	12,92ns	9,08ns	0,00a	28,55ab	169,13b
	26/07/04	607,57b	20,86a	519,22b	1290,34c	45,06a	572,61b	757,24b	25,97a	30,45a
<i>F. roseum</i>	09/02/04	46,36b	2,62a	4,28a	0,00ns	0,00ns	1,46ns	1,28ns	0,00ns	2,65ns
	22/03/04	6,33ab	9,46b	0,00a	5,11a	38,09b	8,31a	0,00a	17,61b	8,78ab
	03/05/04	101,78b	5,83a	15,73a	8,12ab	0,00a	18,20b	284,51b	35,73a	6,58a
	14/06/04	1,44a	25,03b	1,28a	3,37ns	0,00ns	4,99ns	4,23ns	0,00ns	2,52ns
	26/07/04	10,88ns	3,94ns	15,54ns	0,00a	0,00a	7,61b	31,47b	0,00a	0,00a
Total	09/02/04	112,22b	5,71a	21,91a	4,90a	17,33a	160,79b	28,12b	7,74a	9,72a
	22/03/04	48,43a	232,68b	90,92ab	30,59a	217,09b	170,47b	30,74a	41,92ab	64,01b
	03/05/04	185,96c	10,95a	53,65b	1445,22b	111,48a	113,10a	488,22ns	202,56ns	275,77ns
	14/06/04	8,34a	40,52b	5,66a	56,80b	12,92a	40,77b	6,07a	28,55a	303,05b
	26/07/04	635,04b	35,83a	539,70b	1372,20c	48,91a	583,85b	865,21b	46,67a	31,78a

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Densidades fúngicas en suelo seco*Microbiota total*

El comportamiento de todas las biosolarizaciones fue muy similar (Gráfico E.2.), destacando el muestreo correspondiente a finales de marzo, en el que se registraron las mayores densidades de hongos. Con limitaciones en la humedad, el género *Aspergillus* spp. se vió desplazado por *Penicillium* spp, aislado frecuentemente en las parcelas biosolarizadas, quizá porque su condición de saprófito condujera a una mayor multiplicación en presencia de materia orgánica.

Tabla 4.E.3. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E en las zonas situadas entre las líneas de cultivo y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 30	%	B+S 2°	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	19,43b	36,10	4,06a	2,43	88,30d	45,51
	22/03/04	7,36b	7,40	1,16a	12,68	56,10d	81,50
	14/05/04	1,80b	11,02	0,00a	0,00	0,31a	1,92
	14/06/04	2,16a	58,56	0,73a	0,22	16,10bc	96,60
	26/07/04	13,00b	81,25	14,26b	1,93	139,50d	42,89
<i>F. solani</i>	11/02/04	0,76bc	1,42	0,30ab	0,18	1,66c	0,86
	22/03/04	0,06ab	0,07	0,00a	0,00	0,70b	1,02
	14/05/04	0,00a	0,00	0,83b	10,42	0,00a	0,00
	14/06/04	0,23b	6,31	0,03a	0,01	0,03a	0,20
	26/07/04	1,06b	6,67	0,86b	0,12	1,70b	0,52
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	0,63b	1,18	0,26a	0,16	0,06a	0,03
	22/03/04	0,06ab	0,07	0,03a	0,36	0,03a	0,05
	14/05/04	0,53bc	3,27	0,16ab	2,08	0,86c	5,33
	14/06/04	1,30c	35,14	0,60b	0,18	0,53b	3,20
	26/07/04	0,93c	5,83	0,10a	0,01	0,03a	0,01
<i>Penicillium</i>	11/02/04	33,00a	61,30	163,00c	97,24	104,00b	53,60
	22/03/04	92,00a	92,46	8,00a	86,96	12,00a	17,43
	14/05/04	14,00c	85,71	7,00abc	87,50	15,00c	92,75
	14/06/04	0,00a	0,00	332,00b	99,59	0,00a	0,00
	26/07/04	1,00a	6,25	724,00c	97,94	184,00b	56,57
Total	11/02/04	53,83b	100	167,63d	100	194,03d	100
	22/03/04	99,50b	100	9,20a	100	68,83ab	100
	14/05/04	16,33ns	100	8,00ns	100	16,17ns	100
	14/06/04	3,70a	100	333,37c	100	16,67b	100
	26/07/04	16,00a	100	739,23e	100	325,23d	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Tabla 4.E.3. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E en las zonas situadas entre las líneas de cultivo y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C.g⁻¹ de suelo seco (continuación)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 4º	%	B+S 5º	%	B+S 6º	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	107,36e	96,12	15,23b	43,90	33,70c	51,14
	22/03/04	46,26d	7,10	21,90c	1,78	7,86b	2,11
	14/05/04	4,40b	46,48	8,20c	39,23	11,46c	99,42
	14/06/04	11,83b	96,47	8,70b	31,95	18,96c	72,76
	26/07/04	12,40b	9,42	38,00c	73,60	0,10a	0,45
<i>F. solani</i>	11/02/04	0,23ab	0,21	0,73bc	2,11	0,10a	0,15
	22/03/04	0,00a	0,00	0,20a	0,02	0,00a	0,00
	14/05/04	2,06c	21,83	0,00a	0,00	0,06a	0,58
	14/06/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,06a	0,26
	26/07/04	1,26b	0,96	0,16a	0,32	0,10a	0,45
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	0,10a	0,09	0,73bc	2,11	0,10a	0,15
	22/03/04	0,03a	0,01	0,33b	0,03	0,80c	0,21
	14/05/04	0,00a	0,00	0,70bc	3,35	0,00a	0,00
	14/06/04	0,43b	3,53	0,53b	1,96	0,03a	0,13
	26/07/04	0,00a	0,00	0,46b	0,90	0,00a	0,00
<i>Penicillium</i>	11/02/04	4,00a	3,58	18,00a	51,87	32,00a	48,56
	22/03/04	605,00b	92,89	1206,00c	98,17	364,00b	97,67
	14/05/04	3,00ab	31,69	12,00bc	57,42	0,00a	0,00
	14/06/04	0,00a	0,00	18,00a	66,10	7,00a	26,85
	26/07/04	118,00b	89,62	13,00a	25,18	22,00a	99,10
Total	11/02/04	111,70c	100	34,70a	100	65,90b	100
	22/03/04	651,30d	100	1228,43e	100	372,67c	100
	14/05/04	9,47ns	100	20,90ns	100	11,53ns	100
	14/06/04	12,27b	100	27,23b	100	26,07b	100
	26/07/04	131,67c	100	51,63ab	100	22,20b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Microbiota furásica

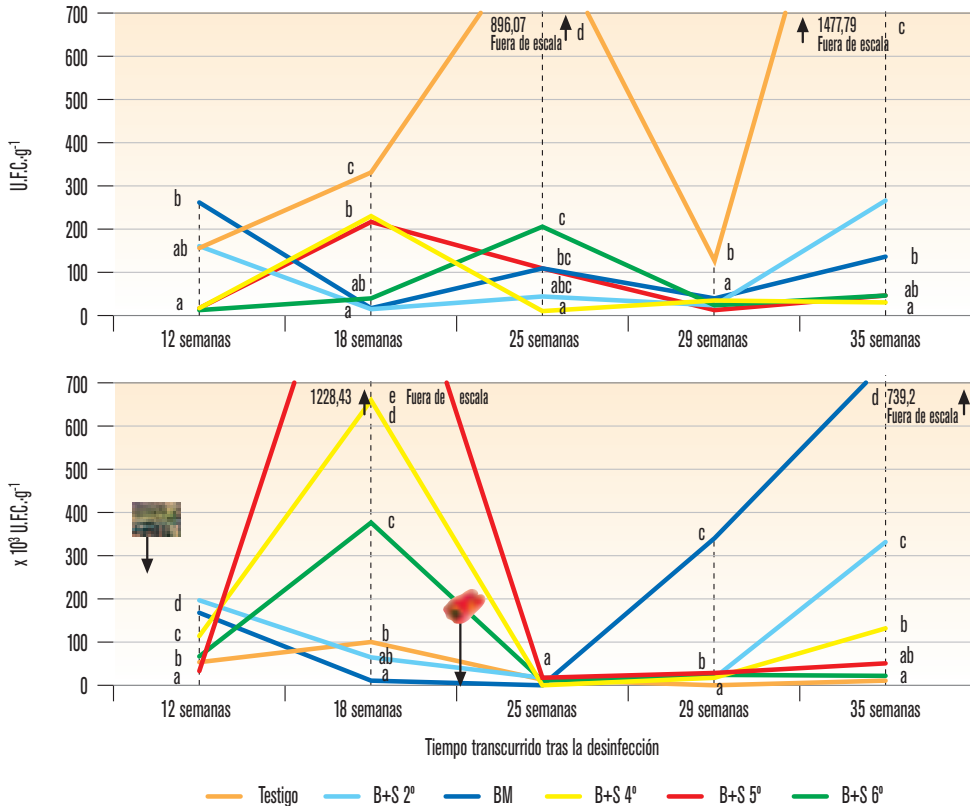
En cuanto al comportamiento de *Fusarium* spp. en la zona de suelo seca, en las parcelas testigo fue donde más frecuentemente se aisló, mientras que las parcelas biosolarizadas fueron reduciendo su densidad conforme aumentaban los años de reiteración para asemejarse al comportamiento de las parcelas bromuradas (Tabla 4.E.4. y Gráfico E.1.).

Tabla 4.E.4. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero E en las zonas situadas entre las líneas de cultivo y porcentaje de cada uno respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 30	%	B+S 2°	%	
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	2,54a	1,63	137,15b	52,71	10,72a	6,72	
	22/03/04	16,65ab	5,07	0,00a	-	6,31a	35,11	
	14/05/04	18,82b	2,10	0,00a	-	23,54b	55,31	
	14/06/04	4,86ns	3,88	1,92ns	4,68	2,81ns	12,39	
	26/07/04	208,69b	14,12	0,00a	-	0,00a	0,00	
	<i>F. solani</i>	11/02/04	154,08c	98,37	114,78bc	44,11	112,17bc	70,21
22/03/04		307,41d	93,65	19,67ab	100	9,12a	50,76	
14/05/04		877,24c	97,90	108,82bc	100	4,25a	10,00	
14/06/04		120,37c	96,12	37,36b	90,98	2,81a	12,39	
26/07/04		1253,60c	84,83	135,29ab	99,15	256,33b	97,70	
<i>F. roseum</i>		11/02/04	0,00a	-	8,28a	3,18	36,85b	23,07
	22/03/04	4,20ab	1,28	0,00a	-	2,54ab	14,13	
	14/05/04	0,00a	-	0,00a	-	14,76ab	34,68	
	14/06/04	0,00a	-	1,78ab	4,35	17,08bc	75,21	
	26/07/04	15,48b	1,05	1,16a	0,85	6,03ab	2,30	
	Total	11/02/04	156,63ab	100	260,22b	100	159,76ab	100
22/03/04		328,27c	100	19,67a	100	17,98a	100	
14/05/04		896,06d	100	108,82bc	100	42,57abc	100	
14/06/04		125,23b	100	41,06a	100	22,71a	100	
26/07/04		1477,78c	100	136,46b	100	262,36b	100	
Género/ Especie		Fecha Muestreo	B+S 4°	%	B+S 5°	%	B+S 6°	%
	<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	1,10a	19,27	5,63a	32,49	0,00a	-
		22/03/04	128,41c	55,19	20,83ab	9,60	2,37a	5,66
		14/05/04	3,38a	30,91	12,11ab	10,86	0,00a	-
		14/06/04	2,47ns	6,10	0,00ns	-	0,00ns	-
		26/07/04	11,02a	30,77	3,85a	7,88	20,70a	44,35
<i>F. solani</i>		11/02/04	1,98a	34,77	11,69a	67,51	7,74a	100
	22/03/04	94,80b	40,74	158,16c	72,85	21,93ab	52,33	
	14/05/04	1,73a	15,81	99,37b	89,14	166,83b	82,36	
	14/06/04	13,01ab	32,11	12,92ab	100	28,55b	100	
	26/07/04	20,86a	58,22	45,06b	92,12	25,97a	55,65	
	<i>F. roseum</i>	11/02/04	2,62a	45,96	0,00a	-	0,00a	0,00
22/03/04		9,46b	4,07	38,09c	17,55	17,61bc	42,01	
14/05/04		5,83ab	53,27	0,00a	-	35,73b	17,64	
14/06/04		25,03c	61,78	0,00a	-	0,00a	-	
26/07/04		3,94a	11,01	0,00a	-	0,00a	-	
Total		11/02/04	5,71a	100	17,33a	100	7,74a	100
	22/03/04	232,68b	100	217,09b	100	41,92ab	100	
	14/05/04	10,95a	100	111,48bc	100	202,56c	100	
	14/06/04	40,52a	100	12,92a	100	28,55a	100	
	26/07/04	35,83a	100	48,91ab	100	46,67ab	100	

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Gráficos E.1. y E.2. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero E entre las líneas de cultivo a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10³ U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco



Densidades fúngicas en suelo húmedo

Microbiota total

Aspergillus spp. fue el género mayoritariamente aislado, seguido de *Penicillium* spp. en la zona humedecida de todos los tratamientos analizados (Tabla 4.E.5.).

El comportamiento de los hongos en las zonas humedecidas siguió las mismas pautas que habían sido ya comentadas hasta ahora: conforme se reiteran las biosolarizaciones, la variación de los géneros se asemeja a la que tiene lugar en las parcelas que son bromuradas.

Al final del cultivo, la densidad acumulada en las parcelas biosolarizadas es similar a la de las parcelas testigo (Gráfico E.4.).

Tabla 4.E.5. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 98:2	%	B+S 2°	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	10,76ab	93,90	21,16c	71,91	38,70d	93,10
	22/03/04	9,63b	55,79	4,10a	84,83	8,90b	93,03
	14/05/04	7,50a	94,14	9,36a	94,30	43,70b	95,21
	14/06/04	14,03a	95,90	6,86a	54,79	32,00b	99,59
	26/07/04	6,10a	94,33	6,40a	73,56	15,93b	96,76
<i>F. solani</i>	11/02/04	0,37ab	3,20	0,40ab	1,36	2,87b	6,90
	22/03/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,30ab	3,14
	14/05/04	0,33ns	4,18	0,33ns	3,36	0,00ns	0,00
	14/06/04	0,00a	0,00	1,53b	12,23	0,03a	0,10
	26/07/04	0,10a	1,55	0,37ab	4,21	0,10a	0,61
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	0,23ns	2,03	0,17ns	0,57	0,00ns	0,00
	22/03/04	0,07ns	0,39	0,07ns	1,38	0,00ns	0,00
	14/05/04	0,13ns	1,67	0,23ns	2,35	0,00ns	0,00
	14/06/04	0,43ns	2,96	0,13ns	1,06	0,03ns	0,10
	26/07/04	0,10ns	1,55	0,07ns	0,77	0,00ns	0,00
<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,10a	0,87	7,70b	26,16	0,00a	0,00
	22/03/04	7,57b	43,82	0,67a	13,79	0,37a	3,83
	14/05/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	2,20b	4,79
	14/06/04	0,17a	1,14	4,00b	31,91	0,07a	0,21
	26/07/04	0,17a	2,58	1,87b	21,46	0,43ab	2,63
Total	11/02/04	11,47a	100	29,43b	100	41,57c	100
	22/03/04	17,27c	100	4,83ab	100	9,57b	100
	14/05/04	7,97a	100	9,93a	100	45,90c	100
	14/06/04	14,63a	100	12,53a	100	32,13c	100
	26/07/04	6,47a	100	8,70a	100	16,47c	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 4°	%	B+S 5°	%	B+S 6°	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	30,13cd	99,01	6,96a	54,86	15,43bc	98,93
	22/03/04	2,63a	32,51	2,50a	91,46	2,73a	60,74
	14/05/04	22,16a	98,66	8,93a	99,63	10,23a	96,85
	14/06/04	22,83b	96,48	11,23a	93,35	26,76b	96,28
	26/07/04	10,13b	78,76	8,96a	79,35	17,66b	97,79
<i>F. solani</i>	11/02/04	0,30ab	0,99	0,17ab	1,31	0,00a	0,00
	22/03/04	0,00a	0,00	0,07a	2,44	1,77b	39,26
	14/05/04	0,13ns	0,59	0,00ns	0,00	0,30ns	2,84
	14/06/04	0,07a	0,28	0,23ab	1,94	0,30ab	1,08
	26/07/04	2,23b	17,36	2,33b	20,65	0,23ab	1,29
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	0,00ns	0,00	0,10ns	0,79	0,10ns	0,64
	22/03/04	0,03ns	0,41	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
	14/05/04	0,03ns	0,15	0,03ns	0,37	0,03ns	0,32
	14/06/04	0,47ns	1,97	0,20ns	1,66	0,13ns	0,48
	26/07/04	0,17ns	1,30	0,00ns	0,00	0,13ns	0,74

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0.5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Biofumigación, B+S: Biosolarización.

Tabla 4.E.5. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 4°	%	B+S 5°	%	B+S 6°	%
<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,00a	0,00	5,47ab	43,04	0,07a	0,43
	22/03/04	5,43ab	67,08	0,17a	6,10	0,00a	0,00
	14/05/04	0,13ns	0,59	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
	14/06/04	0,30a	1,27	0,37ab	3,05	0,60ab	2,16
	26/07/04	0,33ab	2,59	0,00a	0,00	0,03a	0,18
Total	11/02/04	30,43b	100	12,70a	100	15,60ab	100
	22/03/04	8,10b	100	2,73a	100	4,50ab	100
	14/05/04	22,47b	100	8,97a	100	10,57a	100
	14/06/04	23,67b	100	12,03a	100	27,80bc	100
	26/07/04	12,87b	100	11,30b	100	18,07c	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Biofumigación, B+S: Biosolarización.

Microbiota fusárica

Por otro lado, la densidad de *Fusarium* spp. en esta nueva situación provocada se comporta de forma similar a las zonas de influencia de las raíces; las parcelas control y las bromuradas alojaron más colonias de *Fusarium* spp. que las biosolarizadas, que disminuían su densidad con respecto a los años de reiteración (Gráfico E.3).

De nuevo, se obtienen los mismos resultados que los ya comentados para el caso de las parcelas testigo en los suelos sin humedad: las altas densidades de microbiota fusárica, muy semejantes a las bromuradas.

Como ya se indicara en las observaciones realizadas para las muestras de suelo procedente de las zonas cercanas a las raíces de las plantas, las biosolarizaciones reiteradas lograron mantener reducida la proliferación de estos hongos.

2) EFECTO DEL CULTIVO SOBRE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA AISLADA EN LA ZONA COLONIZADA POR LAS RAÍCES EN SUELOS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS

Campaña 2001/2002

Microbiota total

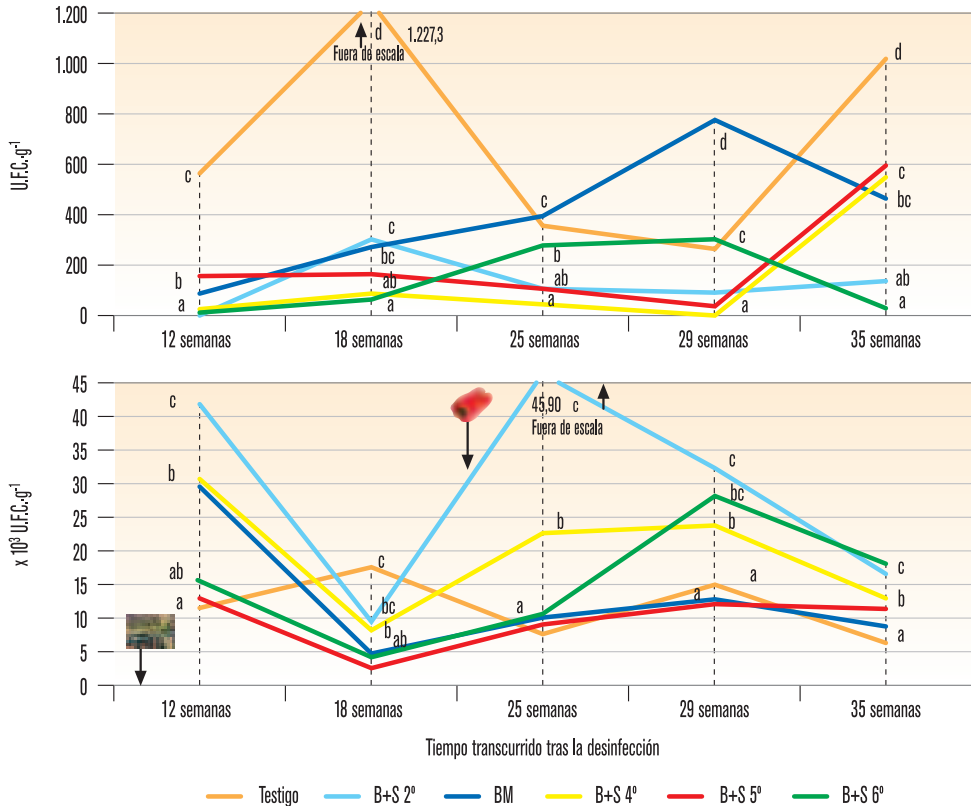
En la Tabla 4.E.7., se aprecia cómo la reiteración de las biosolarizaciones permitió una mayor multiplicación de las poblaciones fúngicas, especialmente hacia

Tabla 4.E.6. Variación de la densidad de los distintos generos de hongos aislados en el suelo del invernadero E en las zonas que fueron humedecidas y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10³ U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 98:2	%	B+S 2°	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	15,32ab	2,78	10,97ab	11,61	0,00a	-
	22/03/04	205,70c	16,76	37,82ab	13,54	2,32a	0,77
	14/05/04	27,89bc	7,63	22,10abc	5,64	8,62a	7,41
	14/06/04	15,03a	5,57	41,35ab	5,38	45,51ab	50,05
	26/07/04	92,14b	9,16	5,21a	1,12	12,88a	9,31
<i>F. solani</i>	11/02/04	528,72c	95,76	81,67b	86,42	5,49a	100
	22/03/04	1013,19c	82,55	239,45b	85,71	283,72b	93,43
	14/05/04	329,71c	90,16	364,67c	93,10	88,34a	75,97
	14/06/04	236,50c	87,55	713,06d	92,77	36,70ab	40,37
	26/07/04	901,12c	89,56	459,37ab	98,50	92,22a	66,62
<i>F. roseum</i>	11/02/04	8,07b	1,46	1,86ab	1,98	0,00a	-
	22/03/04	8,44ab	0,69	2,10a	0,75	17,61b	5,80
	14/05/04	8,07ab	2,21	4,90a	1,25	19,32ab	16,62
	14/06/04	18,59ns	6,89	14,20ns	1,85	8,71ns	9,58
	26/07/04	12,88a	1,28	1,78a	0,38	33,32b	24,07
Total	11/02/04	552,12c	100	94,51b	100	5,49a	100
	22/03/04	1227,34d	100	279,38c	100	303,66bc	100
	14/05/04	365,68c	100	391,69c	100	116,29ab	100
	14/06/04	270,13c	100	768,62d	100	90,92abc	100
	26/07/04	1006,16d	100	466,37bc	100	138,42ab	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 4°	%	B+S 5°	%	B+S 6°	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	0,00a	-	34,60b	21,52	0,00a	-
	22/03/04	7,72a	8,49	67,75b	39,75	21,72a	33,93
	14/05/04	2,44a	4,55	11,94ab	10,56	60,66c	22,00
	14/06/04	1,47a	25,98	26,68ab	65,46	131,39b	43,36
	26/07/04	4,93a	0,91	3,62a	0,62	1,33a	4,19
<i>F. solani</i>	11/02/04	17,63a	80,45	124,73b	77,57	7,06a	72,70
	22/03/04	83,20a	91,51	94,39a	55,38	33,50a	52,35
	14/05/04	35,47a	66,12	82,95a	73,34	208,52b	75,61
	14/06/04	2,91a	51,43	9,08a	22,29	169,13bc	55,81
	26/07/04	519,22b	96,21	572,61bc	98,07	30,45a	95,81
<i>F. roseum</i>	11/02/04	4,28ab	19,55	1,46ab	0,91	2,65ab	27,30
	22/03/04	0,00a	-	8,31ab	4,88	8,78ab	13,72
	14/05/04	15,73ab	29,32	18,20ab	16,09	6,58a	2,39
	14/06/04	1,28ns	22,59	4,99ns	12,25	2,52ns	0,83
	26/07/04	15,54ab	2,88	7,61a	1,30	0,00a	-
Total	11/02/04	21,91a	100	160,79b	100	9,72a	100
	22/03/04	90,92a	100	170,47ab	100	64,01a	100
	14/05/04	53,65a	100	113,10ab	100	275,77b	100
	14/06/04	5,66a	100	40,77ab	100	303,05bc	100
	26/07/04	539,70c	100	583,85c	100	31,78a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B: Biofumigación, B+S: Biosolarización.

Gráficos E.3. y E.4. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero E en las zonas humedecidas a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10³ U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco



el final del cultivo. No ocurrió así en las parcelas que habían sido bromuradas, o que habían recibido únicamente algún tipo de enmienda orgánica sin ser cubiertas por el plástico (Gráfico E.6).

A excepción del muestreo realizado en el mes de junio, se aprecia una gran similitud en la tendencia seguida por la población fúngica de las parcelas solamente biofumigadas o que recibieron un pequeño aporte de materia orgánica y las bromuradas (Gráfico E.6).

Exactamente, tiene lugar la misma observación que se hiciera para el caso del invernadero CH en las dos campañas de cultivo estudiadas.

Tabla 4.E.7. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2001/2002, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B cris+gall	%	T + cris	%	BM 30	%
<i>Aspergillus</i>	03/12/01	0,00a	-	0,70bc	16,47	0,00a	-
	18/03/02	4,50c	26,63	14,85d	72,97	1,16a	51,47
	17/06/02	81,45c	98,61	9,95a	94,76	30,33b	85,77
	12/08/02	22,25a	95,70	28,10a	95,58	19,53a	97,02
<i>F. solani</i>	03/12/01	0,30a	60,00	0,40a	9,41	0,00a	-
	18/03/02	0,00a	-	0,60a	2,95	0,43a	19,12
	17/06/02	0,65a	0,79	0,00a	-	3,53c	9,99
	12/08/02	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
<i>Rhizopus</i>	03/12/01	0,00a	-	3,10b	72,94	0,03a	100
	18/03/02	0,00a	-	4,90d	24,08	0,03a	1,47
	17/06/02	0,35ab	0,42	0,55b	5,24	1,26c	3,58
	12/08/02	1,00bc	4,30	1,30c	4,42	0,60ab	2,98
<i>Penicillium</i>	03/12/01	0,20bc	40,00	0,05ab	1,18	0,00a	-
	18/03/02	12,40d	73,37	0,00a	-	0,63b	27,94
	17/06/02	0,15ab	0,18	0,00a	-	0,23ab	0,66
	12/08/02	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
Total	03/12/01	0,50a	100	4,25c	100	0,03a	100
	18/03/02	16,90d	100	20,35d	100	2,26a	100
	17/06/02	82,60c	100	10,50a	100	35,36b	100
	12/08/02	23,25ab	100	29,40b	100	20,13a	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 2º	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%
<i>Aspergillus</i>	03/12/01	2,90d	96,67	0,33ab	4,63	1,06c	10,03
	18/03/02	0,73a	8,09	0,70a	20,79	2,66b	44,44
	17/06/02	65,83c	96,96	63,56c	98,05	29,53b	96,94
	12/08/02	146,73c	98,99	98,03b	99,29	127,03c	99,56
<i>F. solani</i>	03/12/01	0,10a	3,33	6,43b	89,35	9,03c	84,95
	18/03/02	5,56c	61,40	1,46b	43,56	0,30a	5,00
	17/06/02	1,70b	2,50	0,43a	0,67	0,43a	1,42
	12/08/02	0,43b	0,29	0,40b	0,41	0,06a	0,05
<i>Rhizopus</i>	03/12/01	0,00a	-	0,30a	4,17	0,16a	1,57
	18/03/02	2,70c	29,78	1,20b	35,64	0,16a	2,78
	17/06/02	0,06a	0,10	0,23ab	0,36	0,23ab	0,77
	12/08/02	1,06c	0,72	0,30a	0,30	0,50ab	0,39
<i>Penicillium</i>	03/12/01	0,00a	-	0,13abc	1,85	0,36c	3,45
	18/03/02	0,06a	0,74	0,00a	-	2,86c	47,78
	17/06/02	0,30bc	0,44	0,60c	0,93	0,26abc	0,88
	12/08/02	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
Total	03/12/01	3,00b	100	7,20d	100	10,63e	100
	18/03/02	9,06c	100	3,36a	100	6,00b	100
	17/06/02	67,90c	100	64,83c	100	30,46b	100
	12/08/02	148,23d	100	98,73c	100	127,60d	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. B cris+gall: Biofumigación con crisantemo + gallinaza. T: Testigo. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Microbiota fusárica

En el primer muestreo realizado a lo largo de la campaña 2001/2002, los suelos procedentes de las parcelas biosolarizadas por 2º y 4º año prácticamente no permitieron detectar la presencia de poblaciones fusáricas (Tabla 4.E.8.). Sí lo hicieron las parcelas bromuradas. Prueba de que en el suelo existe una gran densidad de estos hongos, la muestran las parcelas testigo que mantuvieron estos niveles a lo largo de todo el cultivo hasta igualarse en el último muestreo con lo que sucediera en las parcelas bromuradas. Este hecho se aprecia muy bien en el Gráfico E.5. donde sobresalen en gran medida los niveles de población fusárica del testigo.

Tabla 4.E.8. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero E y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2001/2002, expresada en U.F.C.:g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B cris+gall	%	T + cris	%	BM 30	%
<i>F. oxysporum</i>	03/12/01	5,03a	9,21	105,44b	6,44	0,00a	-
	18/03/02	0,00a	-	23,87b	1,26	0,67a	0,19
	17/06/02	0,00a	-	50,81b	2,76	34,08b	2,78
	12/08/02	32,10b	15,68	38,41b	2,04	50,92b	3,20
<i>F. solani</i>	03/12/01	41,36a	75,76	1221,39d	74,69	182,67c	97,35
	18/03/02	23,87a	10,96	1820,07c	96,49	337,63b	99,80
	17/06/02	313,84b	98,59	1788,66e	97,23	1187,71d	97,20
	12/08/02	172,59b	8,43	1832,93c	97,77	1536,26c	96,79
<i>F. roseum</i>	03/12/01	8,20a	15,02	308,30b	18,85	4,96a	2,64
	18/03/02	193,74b	89,02	42,24ab	22,39	0,00a	-
	17/06/02	4,48a	1,40	0,00a	-	0,00a	-
	12/08/02	0,00ns	-	3,21ns	0,17	0,00ns	-
Total	03/12/01	54,59ab	100	1635,13c	100	187,63b	100
	18/03/02	217,62b	100	1886,20c	100	338,30b	100
	17/06/02	318,32b	100	1839,48d	100	1221,80c	100
	12/08/02	204,70b	100	1874,56c	100	1587,18c	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 2º	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%
<i>F. oxysporum</i>	03/12/01	0,00a	-	4,23a	3,49	3,56a	31,98
	18/03/02	0,00a	-	0,00a	-	1,67a	23,35
	17/06/02	0,00a	-	12,75a	1,49	6,01a	3,71
	12/08/02	0,00a	-	2,72a	1,15	0,00a	-
<i>F. solani</i>	03/12/01	0,00a	-	116,77b	96,50	7,57a	68,01
	18/03/02	0,00a	-	0,00a	-	1,97a	27,55
	17/06/02	31,05a	92,05	838,86c	98,19	155,60b	96,27
	12/08/02	0,00a	-	232,07b	98,81	0,00a	-

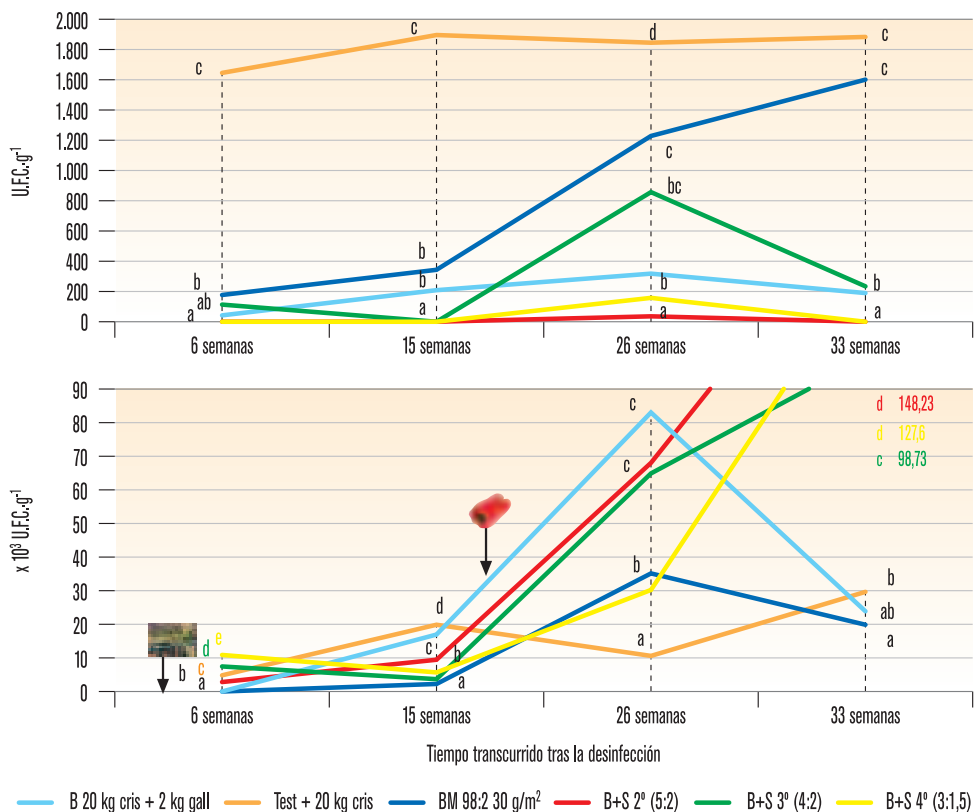
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. B cris+gall: Biofumigación con crisantemo + gallinaza, T: Testigo, BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Tabla 4.E.8. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero E y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2001/2002, expresada en U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/Especie	Fecha Muestreo	B cris+gall	%	T + cris	%	BM 30	%
<i>F. roseum</i>	03/12/01	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
	18/03/02	0,00a	-	0,00a	-	3,50a	48,95
	17/06/02	2,67a	7,91	2,66a	0,31	0,00a	-
	12/08/02	9,47ns	100	0,97ns	0,41	0,00ns	-
Total	03/12/01	0,00a	100	121,00b	100	11,13a	100
	18/03/02	0,00a	100	0,00a	100	7,15a	100
	17/06/02	33,73a	100	854,29bc	100	161,62b	100
	12/08/02	9,47a	100	235,76b	100	0,00a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. B cris+gall: Biofumigación con crisantemo + gallinaza, T: Testigo, BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Gráficos E.5. y E.6. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero E a lo largo de la campaña 2001/2002, expresado en U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10³ U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco



La biosolarizaciones de segundo y cuarto año fueron estables en cuanto al control de los *Fusarium* hasta el último de los muestreos.

La biofumigación sola no se diferenció significativamente al final del cultivo de la biosolarización de tercer año, pero sí que lo hizo respecto de los demás tratamientos, situándose a niveles de población bastante inferiores al bromuro de metilo o testigo con aportación de enmienda.

Campaña 2002/2003

Microbiota total

Las parcelas biosolarizadas por primera vez fueron las que permitieron contabilizar un mayor número de colonias de hongos al inicio de la campaña. Prácticamente, la totalidad de las colonias aisladas perteneció al género *Aspergillus* spp. (Tabla 4.E.9.).

Los niveles de población fúngica de partida de las biosolarizaciones reiteradas (4º y 5º año) fueron similares a los del bromuro de metilo, controlando la multiplicación inicial de los hongos.

Tal y como se aprecia en el Gráfico E.8., al aumentar los años de reiteración de la biosolarización, el comportamiento se va asemejando al del bromuro de metilo (MARTÍNEZ *et al.*, 2005).

En general, todos los tratamientos permitieron multiplicar las densidades de poblaciones fúngicas con el transcurso del cultivo (quizá por diversos factores como el incremento de temperatura, mayor traslocación de nutrientes por el crecimiento vegetativo de la planta,...), pero el mayor nivel de inóculo presente correspondió con la realización por primera vez de la biosolarización.

Parece ser que conforme aumentaron los años de reiteración de la biosolarización, eran otros los géneros, además de *Aspergillus* spp. los que también se contabilizaban de forma habitual (había un mayor espectro).

Microbiota fusárica

De la Tabla 4.E.10., se extraen varias observaciones:

- La primera, que las mayores densidades de *Fusarium* spp. se dieron al principio en las parcelas biosolarizadas por primera vez que tuvieron un

Tabla 4.E.9. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en 10^3 U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 1º	%	BM	%	B+S 3º	%	B+S 4º	%	B+S 5º	%
<i>Aspergillus</i>	05/12/02	40,00b	47,22	1,70a	24,83b	97,01	3,70a	2,06a	25,17	2,06a	40,52
	27/01/03	20,20b	79,93	7,70a	41,33c	95,90	8,76a	16,93b	81,47	16,93b	83,88
	10/03/03	56,00e	55,46	8,80b	29,26d	90,89	14,96c	3,00a	55,16	3,00a	74,63
	23/04/03	42,96c	87,66	16,40a	26,46b	90,54	14,50a	17,73a	96,88	17,73a	93,17
	02/06/03	69,50c	86,70	10,43a	29,03b	86,41	29,33b	29,06b	81,71	29,06b	86,77
	18/07/03	22,43b	75,86	2,20a	0,13a	36,36	1,13a	0,36a	46,58	0,36a	35,48
	12/08/03	0,46a	38,24	0,43a	0,13a	20,00	15,30c	3,26b	88,78	3,26b	100
	05/12/02	0,63a	16,67	0,60a	0,46a	1,82	2,90b	0,26ab	19,73	0,26ab	5,23
	27/01/03	0,00a	11,76	1,13b	0,00a	-	1,60b	1,30b	14,86	1,30b	6,44
	10/03/03	1,33c	0,76bc	0,76bc	0,50ab	1,55	0,10a	0,03a	0,37	0,03a	0,50
23/04/03	0,10a	1,25	0,23a	1,10b	3,76	0,10a	0,00a	0,67	0,00a	-	
02/06/03	0,73a	3,32	0,40a	0,33ab	1,59	2,16b	0,56a	6,04	0,56a	1,69	
18/07/03	0,00a	1,15	0,03a	0,10a	27,27	0,00a	0,36b	-	0,36b	35,48	
12/08/03	0,00a	-	0,00a	0,00a	-	0,00a	0,60b	3,48	0,00a	-	
<i>Rhizopus</i>	05/12/02	0,50b	-	0,00a	0,16a	0,65	0,03a	0,03a	0,23	0,03a	0,65
	27/01/03	0,50b	-	0,00a	0,73b	1,70	0,03a	0,00a	0,31	0,00a	-
	10/03/03	0,16a	3,57	0,56bc	0,60bc	1,86	0,80c	0,26a	2,93	0,26a	3,98
	23/04/03	0,30a	1,79	1,13b	1,26b	4,33	0,03a	0,03a	0,22	0,03a	0,18
	02/06/03	2,63c	9,47	1,13b	2,23c	6,65	0,93ab	0,36a	2,60	0,36a	1,09
	18/07/03	0,63bc	22,99	0,66c	0,10a	27,27	0,13a	0,20ab	5,48	0,20ab	19,35
	12/08/03	1,00a	50,00	0,56ab	0,33ab	80,00	1,06a	0,00a	6,19	0,00a	-
	05/12/02	0,06a	36,11	1,30a	0,13a	0,52	8,00c	2,73b	54,88	2,73b	53,59
	27/01/03	0,00a	8,30	0,80b	1,03b	2,40	0,36ab	0,97a	3,41	1,96c	9,74
	10/03/03	0,13a	36,13	5,73b	1,83a	5,69	11,26c	1,40a	41,52	1,40a	20,90
23/04/03	1,30bc	9,11	1,70c	0,40ab	1,37	0,33a	1,26c	2,93	1,26c	6,65	
02/06/03	0,00a	0,55	0,06a	1,80a	3,36	3,46b	3,50b	9,66	3,50b	10,45	
18/07/03	0,00a	11,76	0,03a	0,03a	9,09	1,16b	0,10a	47,95	0,10a	9,68	
12/08/03	0,03ab	-	0,13ab	0,00a	-	0,26b	0,00a	1,55	0,00a	-	
Total	05/12/02	41,20c	100	3,60a	25,60b	100	14,70ab	5,10a	100	5,10a	100
	27/01/03	20,70b	100	9,63a	43,10c	100	10,76a	20,20b	100	20,20b	100
	10/03/03	57,63d	100	15,86b	32,20c	100	27,13c	6,70a	100	6,70a	100
	23/04/03	44,66d	100	18,66a	29,23c	100	14,96b	19,03ab	100	19,03ab	100
	02/06/03	72,86e	100	12,03a	33,60b	100	35,90b	33,50b	100	33,50b	100
	18/07/03	23,06b	100	2,90a	0,36a	100	2,43a	1,03a	100	1,03a	100
12/08/03	1,50a	100	1,13a	0,66a	100	17,23c	3,26b	100	3,26b	100	

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

comportamiento muy similar a las de los suelos bromurados. Sin embargo, conforme aumentaron los años de reiteración de la biosolarización lo hacía el control sobre estas poblaciones (Gráfico E.7.).

- La segunda es que la variación de los niveles de inóculo fue mucho más moderada en todas las biosolarizaciones que en las parcelas bromuradas puesto que en éstas se incrementaron considerablemente las poblaciones a comienzos del mes de junio.

Otro aspecto a considerar, es que las parcelas bromuradas estuvieron prácticamente dominadas por *F. solani* mientras que en los otros casos estudiados, las proporciones estuvieron más distribuidas entre las especies sistemáticamente aisladas.

Gráficos E.7. y E.8. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero E a lo largo de la campaña 2002/2003, expresado en U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10 3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco

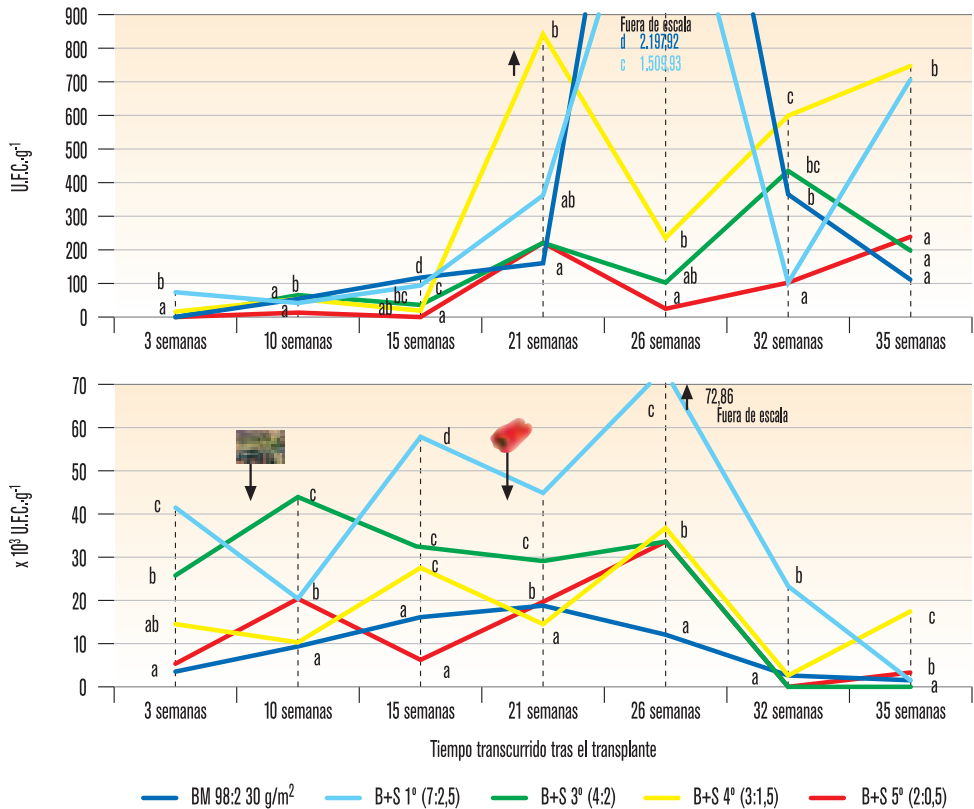


Tabla 4.E.10. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero E y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM 30	%	B+S 1°	%	B+S 3°	%	B+S 4°	%	B+S 5°	%
<i>F. oxysporum</i>	05/12/02	0,00a	76,32	52,67b	0,00a	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
	27/01/03	0,00ns	-	0,00ns	0,00ns	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	10/03/03	7,58ab	9,38	8,58ab	2,707b	2,707b	75,31	0,00a	-	0,00a	-
	23/04/03	8,41a	59,47	2,11,71b	22,87ab	18,66ab	10,60	211,39ab	25,52	140,64ab	66,21
	02/06/03	85,77d	3,90	7,719c	18,66ab	17,87	17,87	136,02b	57,09	9,06a	42,46
	18/07/03	35,97ab	9,91	17,17a	32,76c	19,63	76,05	534,86bc	89,83	69,52ab	66,40
	12/08/03	26,79abc	22,78	12,23ab	69,86c	1,73	34,85	45,94bc	6,22	5,40a	2,28
	05/12/02	0,00ns	23,68	16,33ns	0,00ns	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	27/01/03	18,65ns	25,45	11,38ns	7,24ns	7,24ns	12,97	4,29ns	7,97	4,34ns	99,96
10/03/03	79,96c	25,60	23,44b	1,92ab	25,60	5,37	3,42ab	27,72	0,00a	-	
23/04/03	138,86a	26,94	95,90a	98,97a	26,94	45,88	536,25b	64,75	64,55a	30,39	
02/06/03	2087,83c	25,89	390,86b	25,89	55,79ab	53,41	73,96ab	31,04	12,28a	57,54	
18/07/03	227,39b	72,41	63,36ab	55,84a	72,41	12,96	33,23a	5,58	17,80a	17,01	
12/08/03	83,19a	86,66	612,85ab	100,22a	100,22a	49,99	688,08b	93,17	221,75a	93,57	
<i>F. roseum</i>	05/12/02	0,00ns	-	0,00ns	0,0ns	0,0ns	-	9,46ns	100	0,00ns	-
	27/01/03	32,28ab	74,55	33,36abc	48,64bc	48,64bc	87,03	49,58c	92,03	4,38a	50,26
	10/03/03	27,37a	65,02	59,55b	6,94a	6,94a	19,32	8,92a	72,28	2,39a	100
	23/04/03	14,45ab	13,59	48,38bc	93,86c	13,59	43,51	80,57bc	9,73	7,22a	3,40
	02/06/03	24,31a	69,00	1041,88b	30,00a	30,00a	28,72	28,26a	11,86	0,00b	-
	18/07/03	99,83c	7,96	6,96a	47,39b	47,39b	11,00	27,34ab	4,59	17,37ab	16,60
	12/08/03	7,63a	11,41	80,49b	30,40a	30,40a	15,16	4,52a	0,61	9,83a	4,15
	05/12/02	0,00a	100	69,01b	100	0,00a	100	9,46a	100	0,00a	100
	27/01/03	50,93b	100	44,75ab	55,88b	55,88b	100	53,87b	100	8,72a	100
10/03/03	114,91d	100	91,59cd	35,95bc	35,95bc	100	12,34ab	100	2,39a	100	
23/04/03	161,73a	100	356,00ab	215,70a	215,70a	100	828,22b	100	212,43a	100	
02/06/03	2197,92d	100	1509,93c	104,46ab	104,46ab	100	238,25b	100	21,35a	100	
18/07/03	363,20bc	100	87,50a	431,00c	431,00c	100	595,44bc	100	104,71ab	100	
12/08/03	117,62a	100	705,58b	200,49a	200,49a	100	738,55b	100	236,98a	100	

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre diferentes situaciones de humedad de cada tratamiento en cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Campaña 2003/2004*Microbiota total*

Al inicio del cultivo, las parcelas que alojaron mayores densidades fúngicas fueron las biosolarizaciones de 2º y 4º año (Tabla 4.E.11. y Gráfico E.10.). El comportamiento en cuanto a la multiplicación de las poblaciones en el testigo fue muy similar al de las parcelas bromuradas.

Las parcelas biosolarizadas soportaron una mayor densidad de hongos dominados por *Aspergillus* spp. Sin embargo, las parcelas bromuradas sí que tuvieron más distribuidas las proporciones de cada uno de los géneros habitualmente medidos.

Tabla 4.E.11. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM 98:2	%	B+S 2º	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	8,90ab	82,41	4,10a	62,76	62,53c	98,53
	22/03/04	1,16a	85,37	1,03a	79,49	7,06b	99,07
	14/05/04	8,10a	98,78	2,56a	33,48	19,46b	100
	14/06/04	14,03a	95,90	6,86a	54,79	32,00b	99,59
	26/07/04	25,10c	92,28	13,83b	89,25	3,65a	63,48
<i>F. solani</i>	11/02/04	0,40c	3,70	0,30bc	4,59	0,06ab	0,11
	22/03/04	0,10ab	7,32	0,00a	0,00	0,03ab	0,47
	14/05/04	0,00a	0,00	0,10a	1,30	0,00a	0,00
	14/06/04	0,00a	0,00	1,53b	12,23	0,03a	0,10
	26/07/04	0,40ab	1,47	1,63b	10,54	1,65b	28,70
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	0,90bc	8,33	0,46abc	7,14	0,50abc	0,79
	22/03/04	0,00a	0,00	0,03ab	2,56	0,00a	0,00
	14/05/04	0,03a	0,41	0,20ab	2,61	0,00a	0,00
	14/06/04	0,43bc	2,96	0,13ab	1,06	0,03a	0,10
	26/07/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,25a	4,35
<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,60a	5,56	1,66b	25,51	0,36a	0,58
	22/03/04	0,10a	7,32	0,23a	17,95	0,03a	0,47
	14/05/04	0,06a	0,81	4,80b	62,61	0,00a	0,00
	14/06/04	0,17a	1,18	4,00b	31,91	0,06a	0,21
	26/07/04	1,70b	6,25	0,03ab	0,22	0,20a	3,48
Total	11/02/04	10,80a	100	6,53a	100	63,46c	100
	22/03/04	1,36a	100	1,30a	100	7,13ab	100
	14/05/04	8,20a	100	7,66a	100	19,46b	100
	14/06/04	14,63a	100	12,53a	100	32,13b	100
	26/07/04	27,20c	100	15,50b	100	5,75a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Tabla 4.E.11. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero E y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 4°	%	B+S 5°	%	B+S 6°	%
<i>Aspergillus</i>	11/02/04	50,53c	99,80	10,40ab	92,31	27,16b	91,27
	22/03/04	8,33b	97,28	17,10c	40,81	19,63c	97,68
	14/05/04	62,56c	98,53	10,93b	90,36	4,46a	83,23
	14/06/04	22,83b	96,48	11,23a	93,35	26,76b	96,28
	26/07/04	17,43b	90,02	30,80c	99,04	24,03b	90,58
<i>F. solani</i>	11/02/04	0,00a	0,00	0,20abc	1,78	0,20abc	0,67
	22/03/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,13b	0,66
	14/05/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,40b	7,45
	14/06/04	0,06a	0,28	0,23a	1,94	0,30a	1,08
	26/07/04	1,60b	8,26	0,23a	0,75	1,60b	6,03
<i>Rhizopus</i>	11/02/04	0,03a	0,07	0,36ab	3,25	1,03c	3,47
	22/03/04	0,00a	0,00	0,10b	0,24	0,03ab	0,17
	14/05/04	0,20ab	0,31	0,43b	3,58	0,06ab	1,24
	14/06/04	0,46c	1,97	0,20abc	1,66	0,13ab	0,48
	26/07/04	0,26a	1,38	0,00a	0,00	0,83b	3,14
<i>Penicillium</i>	11/02/04	0,06a	0,13	0,30a	2,66	1,36b	4,59
	22/03/04	0,23a	2,72	24,70b	58,95	0,30a	1,49
	14/05/04	0,73a	1,15	0,73a	6,06	0,43a	8,07
	14/06/04	0,30a	1,27	0,36ab	3,05	0,60a	2,16
	26/07/04	0,06a	0,34	0,06a	0,21	0,06ab	0,25
Total	11/02/04	50,63c	100	11,26a	100	29,76b	100
	22/03/04	8,56ab	100	41,90c	100	20,10b	100
	14/05/04	63,50c	100	12,10b	100	5,36a	100
	14/06/04	23,66b	100	12,03a	100	27,80b	100
	26/07/04	19,36b	100	31,10c	100	26,53c	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Microbiota fusárica

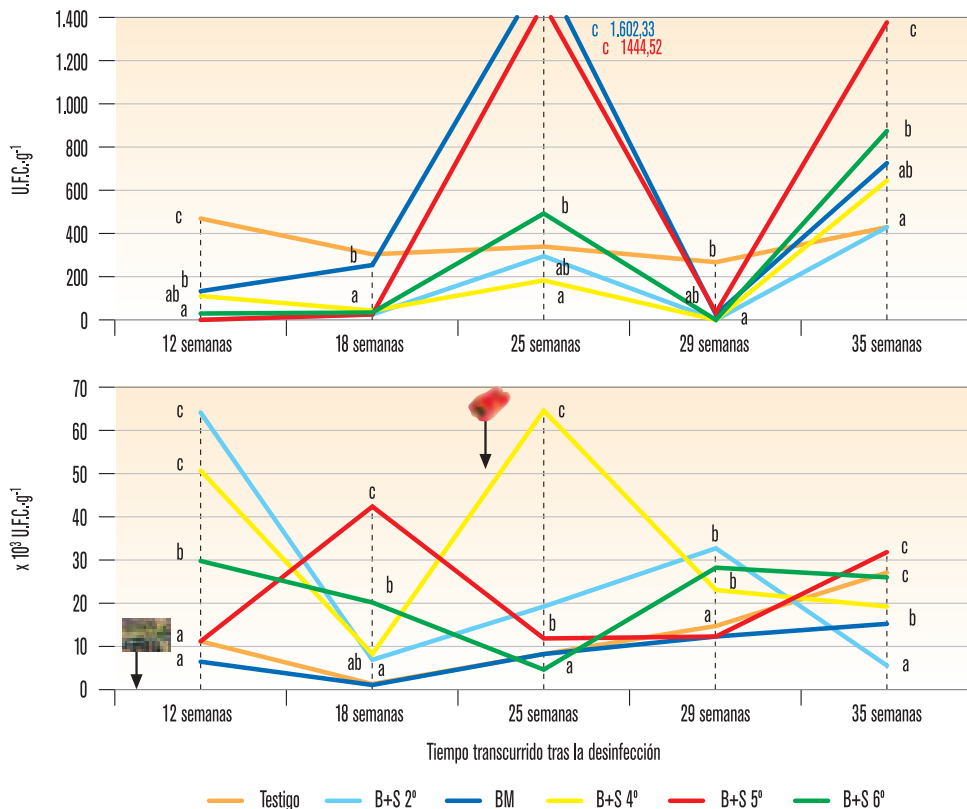
En cuanto al comportamiento de las poblaciones fusáricas en el invernadero con reiteraciones de la biosolarización, destaca el hecho de que las parcelas testigo tuvieron una densidad prácticamente constante a lo largo del cultivo (Tabla 4.E.12.), al igual que ocurriera en la campaña 2001/02. Sin embargo, las parcelas biosolarizadas soportaron menores densidades en casi todos los muestreos con la excepción de momentos muy puntuales como el mes de mayo o el último muestreo (Gráfico E.9.). A la vista de los resultados, de nuevo se comprueba como las parcelas de suelos bromurados permitieron una mayor multiplicación de *Fusarium*. De esta forma, se reiteran los resultados ya expuestos para el caso del invernadero CH en las dos campañas de control.

Tabla 4.E.12. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas y porcentaje de cada una respecto del total en el suelo del invernadero E a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C. \cdot g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Testigo	%	BM	%	B+S 2°	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	21,47b	4,64	0,00a	-	0,00a	-
	22/03/04	33,45c	10,84	9,47ab	3,82	0,00a	-
	14/05/04	26,03a	7,61	180,27bc	11,25	199,73c	66,29
	14/06/04	31,22b	11,62	5,77a	25,15	1,71a	12,15
	26/07/04	26,30ab	6,15	103,26bc	14,42	118,09c	27,30
<i>F. solani</i>	11/02/04	412,37c	89,06	129,41b	98,41	2,12a	100
	22/03/04	273,46b	88,65	227,04b	91,56	5,36a	28,13
	14/05/04	310,64b	90,84	1400,95c	87,43	100,90a	33,49
	14/06/04	209,79b	78,07	10,66a	46,43	5,10a	36,10
	26/07/04	401,18ab	93,85	612,77b	85,58	314,43a	72,70
<i>F. roseum</i>	11/02/04	29,18ab	6,30	2,08a	1,59	0,00a	-
	22/03/04	1,56a	0,51	11,45ab	4,62	13,70b	71,87
	14/05/04	5,27a	1,54	21,10ab	1,32	0,65a	0,22
	14/06/04	27,71b	10,31	6,53a	28,42	,32ab	51,75
	26/07/04	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
Total	11/02/04	463,03c	100	131,49b	100	2,12a	100
	22/03/04	308,48b	100	247,96b	100	19,07a	100
	14/05/04	341,95ab	100	1602,33c	100	301,29ab	100
	14/06/04	268,72c	100	22,97ab	100	14,14ab	100
	26/07/04	427,49a	100	716,04b	100	432,52ab	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	B+S 4°	%	B+S 5°	%	B+S 6°	%
<i>F. oxysporum</i>	11/02/04	2,19a	1,95	2,69a	54,96	3,77a	13,42
	22/03/04	2,08a	4,30	11,39abc	37,24	30,74bc	100
	14/05/04	70,35ab	37,83	231,90c	16,05	164,70bc	33,73
	14/06/04	3,98a	47,74	40,34b	71,02	1,83a	30,30
	26/07/04	16,58a	2,61	81,85bc	5,97	76,49abc	8,84
<i>F. solani</i>	11/02/04	63,67ab	56,73	2,21a	45,04	23,06a	82,01
	22/03/04	40,01a	82,62	14,09a	46,05	0,00a	-
	14/05/04	13,81a	7,43	1205,18c	83,39	39,00a	7,99
	14/06/04	2,91a	34,96	13,08a	23,04	0,00a	-
	26/07/04	607,57ab	95,67	1290,34c	94,03	757,24b	87,52
<i>F. roseum</i>	11/02/04	46,36b	41,31	0,00a	-	1,28a	4,57
	22/03/04	6,33ab	13,08	5,11ab	16,71	0,00a	-
	14/05/04	101,78b	54,74	8,12a	0,56	284,51c	58,28
	14/06/04	1,44a	17,30	3,37a	5,94	4,23a	69,70
	26/07/04	10,88b	1,71	0,00a	-	31,47c	3,64
Total	11/02/04	112,22ab	100	4,90a	100	28,12a	100
	22/03/04	48,43a	100	30,59a	100	30,74a	100
	14/05/04	185,96a	100	1445,22c	100	488,22b	100
	14/06/04	8,34a	100	56,80b	100	6,07a	100
	26/07/04	635,04ab	100	1372,20c	100	865,21ab	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, B+S: Biosolarización.

Gráficos E.9. y E.10. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero E a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10 3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco



3) EFECTO DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DEL SUELO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO DE LAS PLANTAS Y LA PRODUCCIÓN

Campaña 2001/2002

En cuanto al desarrollo vegetativo de las plantas, cabe destacar cómo al final del cultivo, las plantas que crecieron sobre parcelas biofumigadas, ya fuera con o sin plástico, fueron significativamente más altas que las plantas de parcelas de control, a excepción de la reiteración de cuarto año. No hubo diferencias significativas entre las parcelas con reiteración de la biosolarización de segundo y tercer año (Gráfico E.11.).

Las parcelas biosolarizadas tuvieron plantas más altas que las parcelas que habían sido bromuradas.

El desarrollo de las plantas de los tratamientos de biosolarización fue superior al alcanzado en las parcelas bromuradas, pero significativamente mayor al del testigo.

Gráfico E.11. Variación de la altura de las plantas en el Invernadero E. Campaña 2001/2002. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x)$

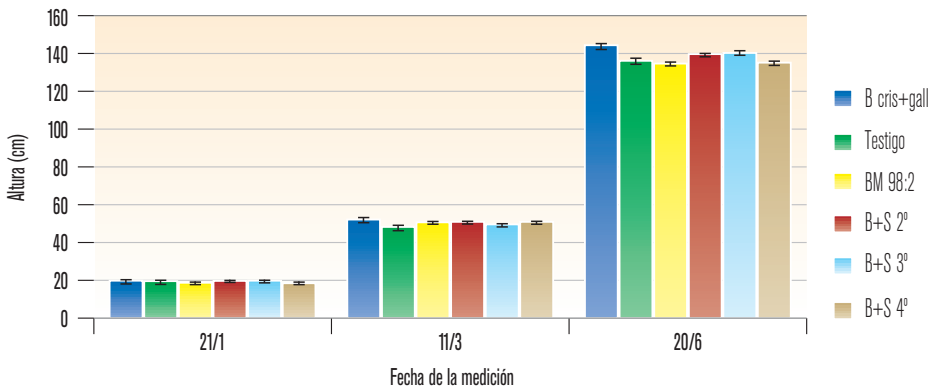
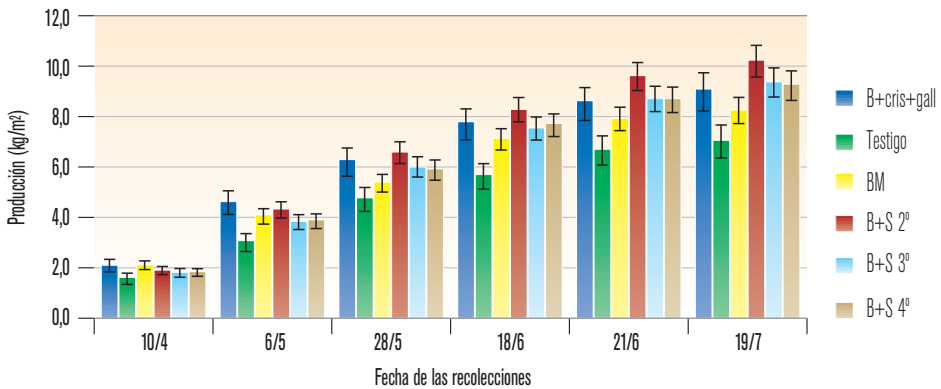


Gráfico E.12. Producción comercial media acumulada en el Invernadero E. Campaña 2001/2002. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$

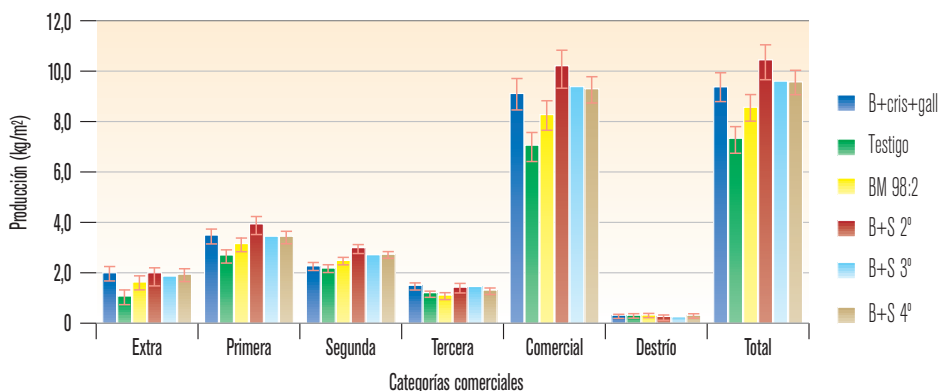


Las producciones comercial y total de los tratamientos de biosolarización fueron superiores a los del bromuro de metilo. En todos los casos fueron superiores al testigo no desinfectado.

Podría de nuevo asociarse esta reducción de la producción con las altas densidades de *Fusarium* aisladas en estas parcelas como se mostró en la Gráfico E.5.

En la primera recolección efectuada en la campaña de cultivo, el 10 de abril, no hubo diferencias significativas entre las parcelas bromuradas y las biofumigadas sin plástico. Tampoco con la biosolarización reiterada por segunda vez. A su vez las biosolarizaciones reiteradas por tercer y cuarto año consecutivo tampoco se diferenciaron significativamente entre sí, ni siquiera respecto del testigo. En cambio, en la segunda recolección, ya se desmarca el testigo como la zona donde menos frutos se obtienen, para acusar más su diferencia con el transcurso del tiempo.

Gráfico E.13. Producción media por categorías comerciales en el Invernadero E. Campaña 2001/2002. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



Al final del cultivo, y en la última recolección efectuada, se aprecian las diferencias en cuanto al número total de kg recogidos en la campaña·m⁻² de parcela de estudio, es decir, en cuanto a la producción acumulada.

Es entonces cuando se observan las diferencias entre tratamientos, si las hubiera.

De los resultados obtenidos, destaca la producción obtenida en las parcelas biosolarizadas, significativamente superior a las obtenidas en las desinfectadas con bromuro de metilo.

No se observaron diferencias significativas entre la producción de las parcelas biofumigadas con enmienda orgánica y la de las biosolarizadas de forma reiterada, y tampoco entre la producción de las primeras y la del bromuro de metilo.

Todos los tratamientos permitieron obtener producciones significativamente superiores a las del testigo.

Campaña 2002/2003

Examinando el desarrollo alcanzado por las plantas al final del cultivo, cabe señalar que aquellas cuyas parcelas habían sido biosolarizadas por quinto año consecutivo, tuvieron el mismo desarrollo que las de las parcelas que habían sido bromuradas. No hubo diferencias entre los tratamientos de biosolarización realizados por primera o cuarta vez.

Gráfico E.14. Variación de la altura de las plantas en el Invernadero E. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x)$

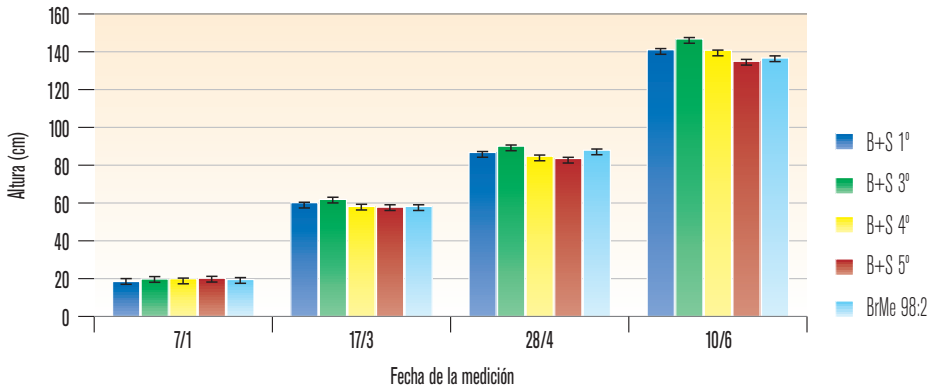
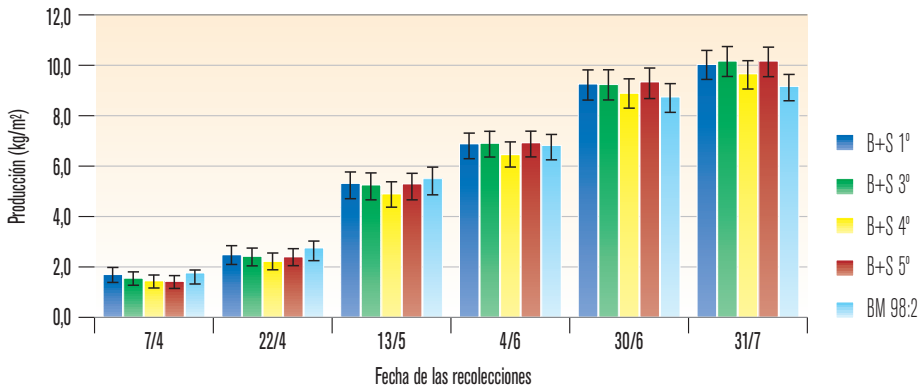


Gráfico E.15. Producción comercial media acumulada en el Invernadero E. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$

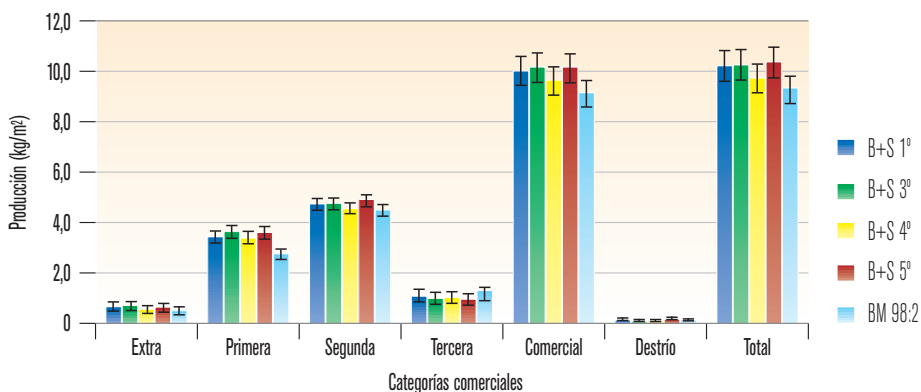


Curiosamente las parcelas biosolarizadas fueron las que permitieron obtener mayores rendimientos productivos, observándose mayores producciones en las biosolarizadas por 1^{er}, 3^{er} y 5^o año respecto de las bromuradas (Gráfico E.15.). Se corrobora así lo que ya señalaran MARTÍNEZ *et al.* (2002), al afirmar que la reiteración de

la biosolarización en el mismo suelo proporciona una mejora en la desinfección del suelo, traducida tanto en un aumento de la producción como en el control de los patógenos y de las malas hierbas. Además, la producción obtenida no se mostró significativamente diferente entre los distintos años de reiteración de la biosolarización.

En relación a la precocidad en el corte del fruto, todos los tratamientos de biosolarización produjeron de forma similar al bromuro de metilo. En cuanto a la producción por categorías comerciales (Gráfico E.16.), y en referencia a la categoría extra, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, comportándose por tanto igual las biosolarizaciones que el bromuro de metilo. En cambio, sí las hubo en la categoría primera, en la que cualquier reiteración de la biosolarización (inclusive la de 1^{er} año) permitió obtener mayor rendimiento que el bromuro de metilo.

Gráfico E.16. Producción media por categorías comerciales en el Invernadero E. Campaña 2002/2003. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



Campaña 2003/2004

En el Gráfico E.17., se aprecia cómo las parcelas que fueron biosolarizadas repetidamente por 2^a, 4^a y 6^a vez, tuvieron las plantas significativamente más altas que las biofumigadas por 5^a vez y las bromuradas y todos los tratamientos proporcionaron plantas más altas que el testigo. La medida de la producción obtenida, tal y como se observa en el Gráfico E.18., refleja que no hubo diferencias significativas entre las parcelas biosolarizadas y las bromuradas. Todos ellos tuvieron producciones significativamente superiores al testigo.

En cuanto a la clasificación de la producción por categorías comerciales (Gráfico E.19.), ocurrió algo similar: no hubo diferencias significativas entre las biosolarizaciones y el bromuro de metilo y sí respecto del testigo.

Gráfico E.17. Variación de la altura de las plantas en el Invernadero E. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x)$

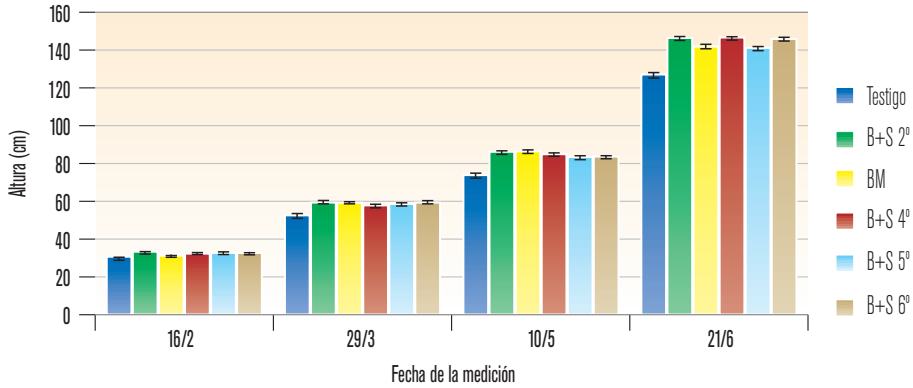


Gráfico E.18. Producción comercial media acumulada en el Invernadero E. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$

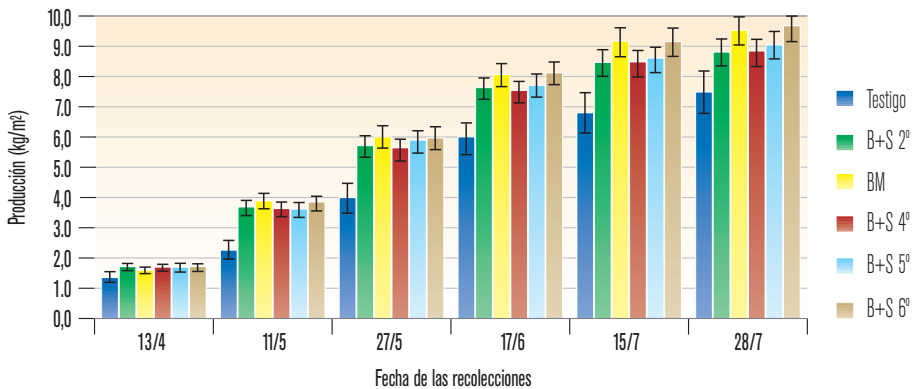
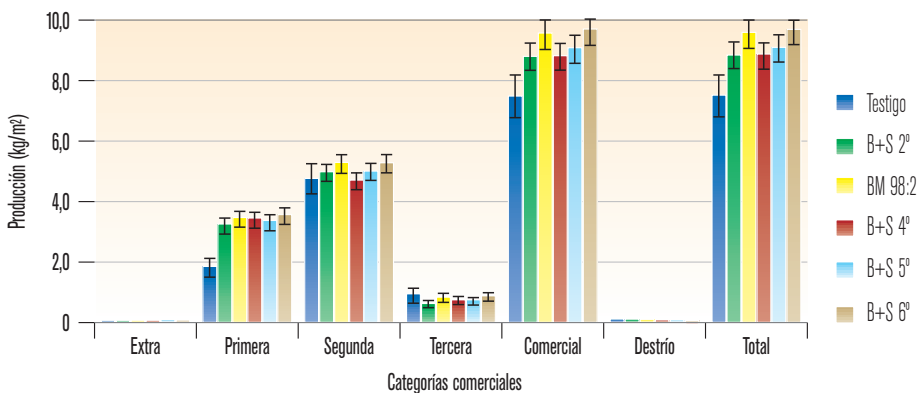


Gráfico E.19. Producción media por categorías comerciales en el Invernadero E. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



INVERNADERO P

1) EFECTO DEL CULTIVO SOBRE LA MICROBIOTA FÚNGICA NO PATÓGENA AISLADA EN LA ZONA COLONIZADA POR LAS RAÍCES EN SUELOS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS

Campaña 2002/2003

Microbiota total

Al comparar la eficacia de todos los tratamientos entre sí en el primero de los muestreos, se aprecia cómo solo el Telone C-35 y el óx. de propileno a $600 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$ fueron los dos productos que sí controlaron la multiplicación de las colonias frente a los demás tratamientos, incluido el bromuro de metilo.

Sin embargo, la colonización del suelo por parte de los hongos, siguió prácticamente el mismo patrón en cualquiera de las parcelas estudiadas, destacando que los meses de abril (18 semanas tras la desinfección) y julio (29 semanas tras a desinfección) fueron los que permitieron registrar las menores densidades de poblaciones fúngicas (Gráfico P.2.).

Según los resultados obtenidos (Tabla 4.P.1.), las desinfecciones del suelo con productos como el Telone C-35, el DMDS con plástico de PE o el óxido de propileno a dosis de $600 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$, exhiben microbiotas totales en menores proporciones que el resto de tratamientos, especialmente respecto al bromuro de metilo. Los primeros recolonizadores del suelo tras la desinfección fueron los microhongos filamentosos *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp., como así lo demuestran sus altas proporciones (37,06% *Aspergillus* spp. y 38,15% *Penicillium* spp.) en relación a los demás detectados.

Con ligeras excepciones como ocurre en el penúltimo muestreo de suelo realizado, los tres productos antes citados, fueron los que un mejor control manifestaron sobre la microbiota fúngica a lo largo del cultivo.

La cloropicrina a dosis $50 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ tuvo, contrariamente a lo que se podría pensar en un principio, peor control que a la dosis de $30 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$.

Curiosamente, en lo que respecta al efecto del óxido de propileno a lo largo de la campaña de cultivo, no se observaron diferencias significativas entre las dos dosis aplicadas, de 300 o de $600 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$.

Parece que el plástico también pudiera tener su influencia en el desarrollo de las poblaciones fúngicas como así se aprecia en el DMDS que con el plástico VIF tuvo mayores densidades que con el PE.

Al final del cultivo, todas las parcelas registraron niveles considerables de hongos (computables a los géneros *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. y la especie *F. solani*), a excepción de las desinfectadas con cloropirrina a 30 g·m⁻² de nuevo, se comprobaría con estos resultados la necesidad de realizar una nueva desinfección para disminuir la carga fúngica presente de cara a la implantación del siguiente cultivo de pimiento.

Tabla 4.P.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero P y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	DMDS VIF	%	CL 50	%	OP 300	%	BM	%
<i>Aspergillus</i>	13/01/03	6,45d	51,60	4,00c	50,31	2,80bc	26,54	6,80d	37,06
	26/02/03	4,40c	33,59	3,95bc	32,38	0,15a	2,97	2,10b	22,22
	09/04/03	3,35e	75,28	0,95bcd	28,36	0,25abc	7,69	0,00a	-
	21/05/03	7,45de	46,71	4,35c	44,85	0,55a	10,19	2,20b	21,78
	02/07/03	4,25d	68,55	0,85abc	32,69	0,05ab	1,67	0,85bc	37,78
	28/07/03	8,20e	82,00	0,30a	3,64	1,45ab	17,26	4,15cd	52,87
	<i>F. solani</i>	13/01/03	4,50b	36,00	2,20b	27,67	6,20b	58,77	4,05b
26/02/03		6,15d	46,95	6,80d	55,74	0,75a	14,85	6,35d	67,20
09/04/03		0,35a	7,87	0,00a	-	0,15a	4,62	0,35a	33,33
21/05/03		4,95cd	31,03	2,50a	25,77	2,75ab	50,93	6,40d	63,37
02/07/03		1,00c	16,13	0,60abc	23,08	0,30ab	10,00	0,40abc	17,78
28/07/03		1,15abc	11,50	0,75ab	9,09	3,45e	41,07	2,40cd	30,57
<i>Rhizopus</i>		13/01/03	0,55bc	4,40	1,60d	20,13	1,55d	14,69	0,50ab
	26/02/03	1,70b	12,98	1,45ab	11,89	4,15c	82,18	0,65a	6,88
	09/04/03	0,75c	16,85	2,40d	71,64	2,85d	87,69	0,70c	66,67
	21/05/03	2,15c	13,48	2,35c	24,23	1,95bc	36,11	0,90ab	8,91
	02/07/03	0,95bc	15,32	1,21cd	46,56	2,65e	88,33	0,85bc	37,78
	28/07/03	0,55ab	5,50	7,10e	86,06	2,80d	33,33	1,30bc	16,56
	<i>Penicillium</i>	13/01/03	1,00b	8,00	0,15a	1,89	0,00a	-	7,00c
26/02/03		0,85bc	6,49	0,00a	-	0,00a	-	0,35ab	3,70
09/04/03		0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
21/05/03		1,40b	8,78	0,50a	5,15	0,15a	2,78	0,60ab	5,94
02/07/03		0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-	0,15b	6,67
28/07/03		0,10a	1,00	0,10a	1,21	0,70c	8,33	0,00a	-
Total		13/01/03	12,50d	100	7,95c	100	10,55cd	100	18,35d
	26/02/03	13,10d	100	12,20cd	100	5,05a	100	9,45bc	100
	09/04/03	4,45c	100	3,35bc	100	3,25bc	100	1,05a	100
	21/05/03	15,95c	100	9,70b	100	5,40a	100	10,10b	100
	02/07/03	6,20f	100	2,60cde	100	3,00de	100	2,25cd	100
	28/07/03	10,00c	100	8,25b	100	8,40b	100	7,85b	100

* Los valores son la media de dos repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, DMDS: Dimetildisulfuro, CL: Cloropirrina, OP: Óxido de propileno, BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.P.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero P y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35	%	DMDS PE	%	OP 600	%	CL 30	%
<i>Aspergillus</i>	13/01/03	0,15ab	100	0,05a	50,00	0,00a	-	0,00a	-
	26/02/03	0,40a	5,41	3,70bc	36,10	2,45bc	40,83	2,35b	32,41
	09/04/03	0,15abc	100	0,05ab	20,00	1,05cd	42,00	1,60de	42,67
	21/05/03	4,75bc	49,22	3,60bc	36,18	4,80cd	52,75	8,15e	58,01
	02/07/03	0,20ab	100	0,75abc	36,59	1,10c	34,38	0,00a	-
	28/07/03	5,15de	91,15	3,55bc	39,89	3,80cd	63,87	1,25a	67,57
	<i>F. solani</i>	13/01/03	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-	0,00a
26/02/03		4,90cd	66,22	5,55d	54,15	2,50b	41,67	3,35bc	46,21
09/04/03		0,00a	0,00	0,10a	40,00	1,10b	44,00	1,20b	32,00
21/05/03		3,35ab	34,72	4,10bc	41,21	3,00ab	32,97	3,20a	22,78
02/07/03		0,00a	-	0,80bc	39,02	0,25ab	7,81	0,00a	-
28/07/03		0,15a	2,65	2,50de	28,09	1,10bc	18,49	0,25ab	13,51
<i>Rhizopus</i>		13/01/03	0,00a	-	0,05ab	50,00	0,05ab	100	1,30c
	26/02/03	1,35b	18,24	1,00ab	9,76	0,80ab	13,33	1,50b	20,69
	09/04/03	0,00a	0,00	0,10ab	40,00	0,35abc	14,00	0,55bc	14,67
	21/05/03	0,85a	8,81	1,75bc	17,59	1,25ab	13,74	2,00c	14,23
	02/07/03	0,00a	-	0,50ab	24,39	1,75d	54,69	0,55bc	100
	28/07/03	0,00a	-	2,15cd	24,16	1,05b	17,65	0,00a	-
	<i>Penicillium</i>	13/01/03	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-	0,00a
26/02/03		0,75c	10,14	0,00a	-	0,25a	4,17	0,05a	0,69
09/04/03		0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-	0,40b	10,67
21/05/03		0,70ab	7,25	0,50a	5,03	0,05a	0,55	0,70ab	4,98
02/07/03		0,00a	-	0,00a	-	0,10ab	3,13	0,00a	-
28/07/03		0,35ab	6,19	0,70c	7,87	0,00a	-	0,35ab	18,92
Total		13/01/03	0,15a	100	0,10a	100	0,05a	100	1,30b
	26/02/03	7,40ab	100	10,25bcd	100	6,00a	100	7,25ab	100
	09/04/03	0,15a	100	0,25a	100	2,50b	100	3,75c	100
	21/05/03	9,65b	100	9,95b	100	9,10b	100	14,05c	100
	02/07/03	0,20a	100	2,05bc	100	3,20e	100	0,55ab	100
	28/07/03	5,65ab	100	8,90b	100	5,95ab	100	1,85a	100

* Los valores son la media de dos repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, DMDS: Dimetildisulfuro, CL: Clopiciprina, OP: Óxido de propileno, BM: Bromuro de metilo.

Microbiota fusárica

Desde el primer muestreo realizado unos días después de la plantación, se comprueba la nula incidencia de los biocidas respecto a las poblaciones de *Fusarium* spp.. El mejor control lo proporcionó el bromuro de metilo que se diferenció del resto de tratamientos efectuados.

En el segundo muestreo realizado, la densidad de microbiota fusárica parece disminuyó en prácticamente todos los tratamientos, y es a partir de finales de mayo cuando vuelven a ascender.

Prestando especial atención a la alta densidad total de *Fusarium* spp. a lo largo del cultivo, caben señalar cuatro fechas: el muestreo correspondiente al mes de enero, al de abril y al de principios de julio (Gráfico P.1.).

Los resultados de los análisis realizados mostraron un débil control tanto de la cloropicrina a 50 g·m⁻², como del óxido de propileno a 300 l·ha⁻¹ y el DMDS con plástico de PE sobre la población fusárica.

Tabla 4.P.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* aislada y porcentaje de cada una respecto del total del suelo del Invernadero P a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	DMDS VIF	%	CL 50 PE	%	OP 300	%	BM	%
<i>F. oxysporum</i>	13/01/03	38,64a	2,95	1656,84d	48,56	14,37a	1,10	31,33a	4,28
	26/02/03	3,22a	0,42	13,87a	3,09	30,42a	1,69	2,24a	0,44
	09/04/03	28,88ab	1,88	41,13b	1,16	258,59e	5,30	8,28a	11,88
	21/05/03	210,23ns	13,76	226,32ns	10,71	302,83ns	14,23	324,81ns	15,92
	02/07/03	100,36bc	5,36	344,72d	9,14	699,34e	14,78	407,54d	22,90
	28/07/03	40,75c	2,72	4,42ab	1,62	114,39d	4,80	33,65c	5,30
	<i>F. solani</i>	13/01/03	1269,53bc	97,05	1656,84cd	48,56	1205,24ab	91,88	701,19a
26/02/03		742,08a	97,19	426,14a	95,02	1607,75b	89,11	458,20a	90,49
09/04/03		1385,41d	90,08	3331,71e	93,75	4067,25e	83,29	61,44a	88,12
21/05/03		1107,42c	72,48	1661,45d	78,59	1522,49d	71,54	1390,78d	68,16
02/07/03		1672,49c	89,28	3083,12d	81,72	3333,28d	70,44	964,24b	54,19
28/07/03		1417,00e	94,56	263,91bc	96,75	2156,15f	90,41	567,92d	89,40
<i>F. roseum</i>		13/01/03	0,00a	-	98,40bc	2,88	92,19b	7,03	0,00a
	26/02/03	18,25a	2,39	8,46a	1,89	165,96c	9,20	45,92a	9,07
	09/04/03	123,70c	8,04	180,80c	5,09	557,26e	11,41	0,00a	-
	21/05/03	210,23a	13,76	226,32ab	10,71	302,83b	14,23	324,81b	15,92
	02/07/03	100,36bc	5,36	344,72d	9,14	699,34e	14,78	407,54d	22,90
	28/07/03	40,75c	2,72	4,42ab	1,62	114,39d	4,80	33,65c	5,30
	Total	13/01/03	1308,18bc	100	3412,09e	100	1311,82ab	100	732,53a
26/02/03		763,55ab	100	448,47a	100	1804,14d	100	506,37ab	100
09/04/03		1538,01d	100	3553,65e	100	4883,10f	100	69,72a	100
21/05/03		1527,90bc	100	2114,10d	100	2128,17d	100	2040,42cd	100
02/07/03		1873,22d	100	3772,58ef	100	4731,98f	100	1779,32cd	100
28/07/03		1498,51e	100	272,77bc	100	2384,95f	100	635,23d	100

* Los valores son la media de dos repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, DMDS: Dimetildisulfuro, CL: Cloropicrina, OP: Óxido de propileno, BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.P.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* aislada y porcentaje de cada una respecto del total del suelo del Invernadero P a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Telone C-35	%	DMDS PE	%	OP 600	%	CL 30 PE	%
<i>F. oxysporum</i>	13/01/03	2522,58e	48,94	209,83b	9,61	719,00c	45,25	875,39c	44,93
	26/02/03	3,72a	0,53	458,59b	12,98	23,17a	1,70	28,74a	1,73
	09/04/03	19,29ab	2,14	130,90d	3,55	22,88ab	1,92	65,42b	8,91
	21/05/03	109,36ns	10,72	141,38ns	8,53	174,03ns	14,59	214,52ns	21,50
	02/07/03	185,46c	15,89	410,92d	11,01	14,79a	12,57	68,42b	18,45
	28/07/03	1,35a	3,67	29,17bc	4,93	3,27ab	1,40	5,53ab	2,76
	<i>F. solani</i>	13/01/03	2522,58e	48,94	1967,80de	90,12	719,00a	45,25	875,39ab
26/02/03		653,57a	92,79	2951,71c	83,51	1158,37a	85,12	1494,42b	90,08
09/04/03		842,70bc	93,37	3239,58e	87,94	1011,09cd	84,73	564,34b	76,85
21/05/03		801,79b	78,57	1374,83d	82,94	845,05bc	70,83	568,97a	57,01
02/07/03		796,60b	68,23	2911,89d	77,99	88,14a	74,86	233,90a	63,09
28/07/03		34,23a	92,65	533,55cd	90,14	227,57b	97,20	189,20b	94,47
<i>F. roseum</i>		13/01/03	109,27bc	2,12	5,91a	0,27	151,06cd	9,51	197,53d
	26/02/03	47,03ab	6,68	124,07bc	3,51	179,33c	13,18	135,86c	8,19
	09/04/03	40,54b	4,49	313,48d	8,51	159,39c	13,36	104,58c	14,24
	21/05/03	109,36a	10,72	141,38a	8,53	174,03ab	14,59	214,52ab	21,50
	02/07/03	185,46c	15,89	410,92d	11,01	14,79a	12,57	68,42b	18,45
	28/07/03	1,35a	3,67	29,17bc	4,93	3,27ab	1,40	5,53b	2,76
	Total	13/01/03	5154,44f	100	2183,56d	100	1589,07bcd	100	1948,33cd
26/02/03		704,33ab	100	3534,38e	100	1360,88bc	100	1659,03cd	100
09/04/03		902,54bc	100	3683,96e	100	1193,37cd	100	734,35b	100
21/05/03		1020,51a	100	1657,60cd	100	1193,11ab	100	998,03a	100
02/07/03		1167,54c	100	3733,74e	100	117,74a	100	370,75b	100
28/07/03		36,94a	100	591,90cd	100	234,12b	100	200,27b	100

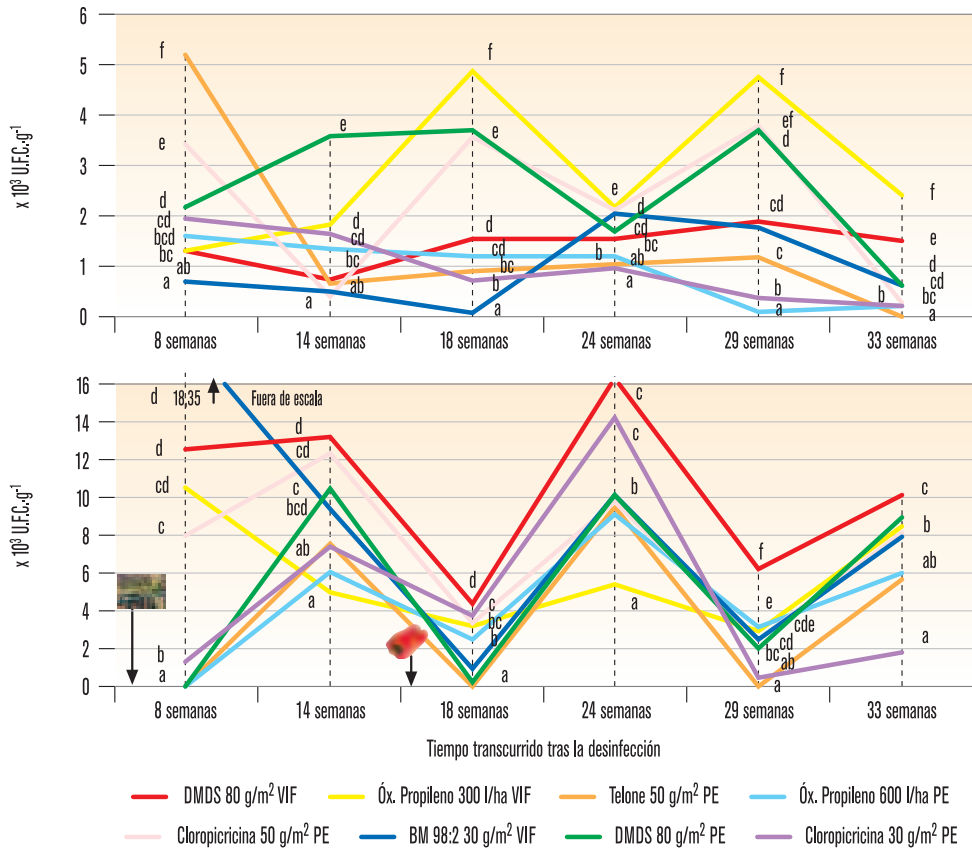
* Los valores son la media de dos repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. ns: no difieren significativamente, DMDS: Dimetildisulfuro, CL: Cloropicrina, OP: Óxido de propileno, BM: Bromuro de metilo.

Sin embargo, es de resaltar el adecuado control de la cloropicrina a 30 g·m⁻², el óxido de propileno a 600 l·ha⁻¹ y la combinación 1,3-Dic+pic, todos ellos con la excepción del primer muestreo.

En el último muestreo, se observa un descenso de las densidades de *Fusarium* presentes, que podrían ser consecuencia del propio agotamiento de las plantas al final del cultivo (Tabla 4.P.2.).

Observando detenidamente los Gráficos P.1 y P.2., los muestreos en los que la microbiota fúngica total era menor, se corresponden con los conteos más cuantiosos de poblaciones fusáricas y viceversa.

Gráficos P.1. y P.2. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero P a lo largo de la campaña 2002/2003, expresado en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10³ U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco



2) EFECTO DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DEL SUELO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO DE LAS PLANTAS Y LA PRODUCCIÓN

Campaña 2002/2003

En cuanto al desarrollo vegetativo alcanzado, todos los tratamientos tuvieron un comportamiento similar, a excepción del DMDS y el óxido de propileno en su menor dosis empleada (Gráfico P.3.), que fueron inferiores y que curiosamente correspondieron con las que mayores densidades de *Fusarium* tuvieron en los análisis.

En el Gráfico P.4. se pueden estimar las diferencias entre los tratamientos estudiados en relación a la producción acumulada obtenida. De esta forma, el tratamiento efectuado con DMDS en sus dos dosis, tuvo las menores producciones 30, di-

ferenciándose del resto de tratamientos. El óxido de propileno, aplicado a la dosis mayor (600 l/ha⁻¹) obtuvo producciones superiores a la dosis inferior empleada, y a su vez, no se diferenció de la cloropicrina a la dosis más alta empleada.

Gráfico P.3. Variación de la altura de las plantas en el Invernadero P. Campaña 2002/2003

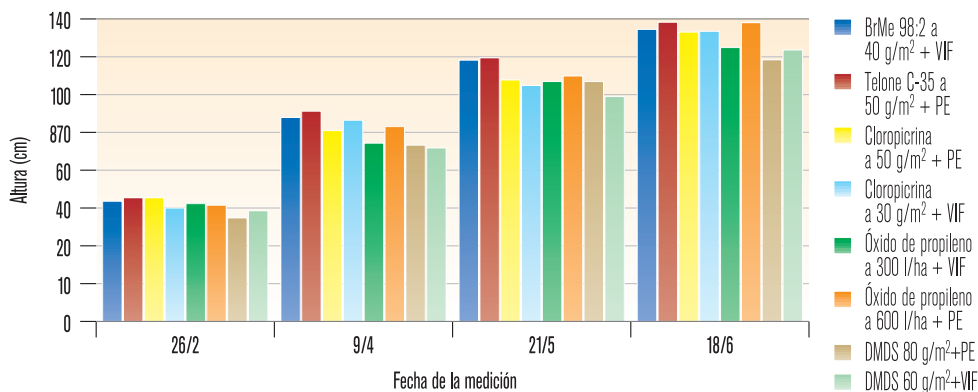
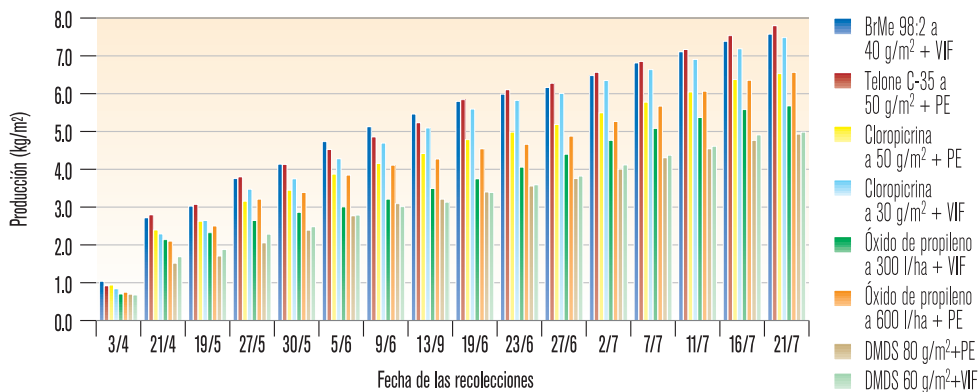


Gráfico P.4. Producción comercial media acumulada en el Invernadero P. Campaña 2002/2003

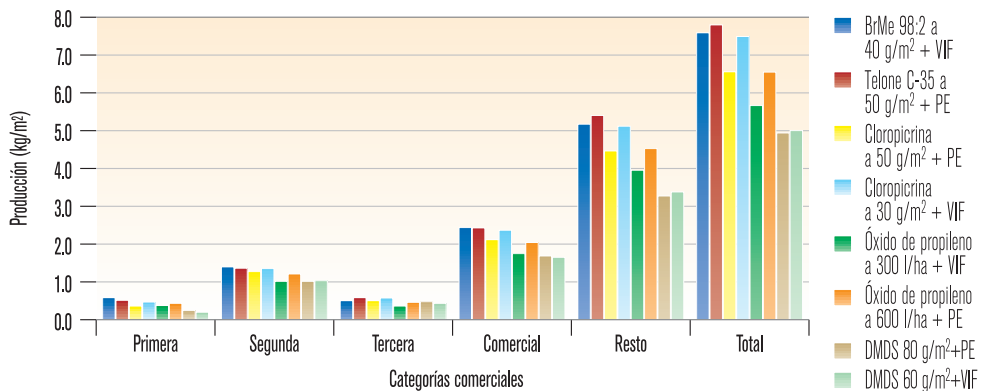


La observación anterior realizada en cuanto a la relación de mayor densidad de *Fusarium* y reducción en el desarrollo de las plantas, sería también válida aquí para referirse a la disminución en la producción obtenida con el óxido de propileno a 300 l/ha⁻¹ y al DMDS en las dos dosis ensayadas.

Las mayores producciones, las proporcionó la desinfección con 1,3 Dic+pic, que tuvo similares resultados a las plantas cuyos suelos fueron desinfectados con bromuro de metilo y con cloropicrina a 30 g·m⁻² (Gráfico P.4.).

El mismo comentario realizado en relación a la cantidad de producción obtenida, sería válido para la calidad de la misma, pues los tres últimos tratamientos mencionados fueron los que proporcionaron el mayor rendimiento en cuanto a las categorías comerciales primera y segunda (Gráfico P.5.).

Gráfico P.5. Producción media por categorías comerciales en el Invernadero P. Campaña 2002/2003



INVERNADERO B

1) Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos

Campaña 2003/2004

Microbiota total

La microbiota fúngica aislada de las distintas parcelas ensayadas del invernadero B, se resume en la Tabla 4.B.1. donde los resultados revelan, a golpe de vista, (se aprecia con mejor claridad en el Gráfico B.2.) que la tendencia efectuada sobre la microbiota fúngica de los desinfectantes químicos entre la cloropicrina y el Telone C-35 es similar, así como todas las variaciones de las aplicaciones de *Trichoderma*, que en este caso, soportaron un menor nivel de inóculo.

Las parcelas en donde tuvo lugar la estimulación de las plantas con aplicaciones de *Trichoderma*, tuvieron un aspecto en común y fue la importancia del género *Rhizopus* spp. respecto al resto de la microbiota (Tabla 4.B.1.).

En los resultados mostrados, destacan las notables diferencias entre la densidad de microbiota soportada (mucho mayor) en las parcelas que fueron bromuradas y el resto de tratamientos.

En casi la totalidad de los tratamientos químicos se dio un incremento de la multiplicación de los hongos correspondiente al muestreo realizado a finales de abril (17 semanas después de dar por concluida la desinfección del suelo), pero que luego descendió hasta el final del cultivo con la excepción de las parcelas bromuradas y las que habían sido desinfectadas con óxido de propileno.

Tabla 4.B.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero B y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM	%	CL	%	TRICH sem	%	TRICH+ SPA	%
<i>Aspergillus</i>	04/02/04	5,45e	57,98	1,20bc	24,16	1,15b	28,63	0,70ab	24,14
	17/03/04	0,96ab	27,62	2,56c	55,00	0,80ab	52,17	0,63ab	20,00
	28/04/04	19,56c	80,63	10,56bc	76,39	1,66a	32,26	0,66a	15,27
	08/06/04	9,76c	66,59	2,63a	30,74	2,63a	41,36	1,53a	24,21
	21/07/04	12,56e	75,70	4,10d	59,13	0,83b	22,12	0,00a	0,00
<i>F. solani</i>	04/02/04	1,65b	17,55	2,36b	47,65	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	17/03/04	0,00a	0,00	0,60c	12,86	0,00a	0,00	0,33bc	10,53
	28/04/04	2,53c	10,44	0,80b	5,78	0,00a	0,00	0,13a	3,05
	08/06/04	2,63d	17,95	4,46e	52,14	0,63ab	9,95	1,60cd	25,26
	21/07/04	2,06bc	12,45	1,46b	21,15	0,10a	2,65	0,15a	4,41
<i>Rhizopus</i>	04/02/04	1,10ab	11,70	1,40b	28,19	2,86c	71,37	2,20c	75,86
	17/03/04	1,23bc	35,24	1,50c	32,14	0,73ab	47,83	2,20ef	69,47
	28/04/04	1,20a	4,95	2,46bc	17,83	2,83cd	54,84	3,00cd	68,70
	08/06/04	1,46a	10,00	1,23a	14,40	2,63bc	41,36	2,93c	46,32
	21/07/04	1,96a	11,85	1,36a	19,71	2,73b	72,57	3,15b	92,65
<i>Penicillium</i>	04/02/04	1,20b	12,77	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	17/03/04	1,30b	37,14	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	28/04/04	0,97b	3,98	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	08/06/04	0,63bc	4,32	0,23ab	2,72	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	21/07/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,10ab	2,65	0,10ab	2,94
<i>Trichoderma</i>	04/02/04	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
	17/03/04	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
	28/04/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,66d	12,90	0,56cd	12,98
	08/06/04	0,16ab	1,14	0,00a	0,00	0,46b	7,33	0,26ab	4,21
	21/07/04	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
Total	04/02/04	9,40e	100	4,96c	100	4,01c	100	2,90b	100
	17/03/04	3,50cd	100	4,66d	100	1,53a	100	3,16cd	100
	28/04/04	24,26d	100	13,83c	100	5,16ab	100	4,36a	100
	08/06/04	14,66c	100	8,56ab	100	6,36a	100	6,33a	100
	21/07/04	16,60e	100	6,93c	100	3,76b	100	3,40b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, CL: Cloropiricina, Trich sem: *Trichoderma* semillero, Trich+FERT: *Trichoderma*+FERTILIZER, Trich suelo: *Trichoderma* aplicada al suelo, OP: Óxido de Propileno.

Tabla 4.B.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero B y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10³ U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	TRICH +FERT	%	TRICH SUELO	%	TELONE C-35	%	OP 600	%
<i>Aspergillus</i>	04/02/04	1,90c	32,76	0,55ab	11,96	0,30a	30,00	2,75d	47,83
	17/03/04	1,00b	31,58	0,23a	7,69	0,83ab	37,31	1,16b	63,64
	28/04/04	0,86a	28,26	0,76a	19,66	9,56b	87,23	1,20a	31,30
	08/06/04	2,20a	28,95	1,93a	26,01	2,53a	30,04	5,16b	55,36
	21/07/04	0,00a	0,00	0,30ab	14,75	2,46c	32,89	2,60c	26,80
<i>F solani</i>	04/02/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,10a	10,00	0,25a	4,35
	17/03/04	0,16ab	5,26	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	28/04/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,13a	1,22	0,00a	0,00
	08/06/04	1,63abc	21,49	1,73cd	23,32	1,76bc	20,95	0,53a	5,71
	21/07/04	0,10a	3,13	0,00a	0,00	1,70b	22,67	3,95c	40,72
<i>Rhizopus</i>	04/02/04	3,86d	66,67	4,05d	88,04	0,60a	60,00	2,75c	47,83
	17/03/04	2,00de	63,16	2,80f	92,31	1,40cd	62,69	0,66a	36,36
	28/04/04	2,13b	69,57	3,06d	78,63	1,26a	11,55	2,33bc	60,87
	08/06/04	2,73bc	35,96	2,66bc	35,87	1,30a	15,42	2,30b	24,64
	21/07/04	3,10b	96,88	1,73a	85,25	1,73a	23,11	2,70b	27,84
<i>Penicillium</i>	04/02/04	0,03a	0,57	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	17/03/04	0,00	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	28/04/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,30a	0,00
	08/06/04	0,00a	0,00	0,13ab	1,79	1,77d	20,95	1,33cd	14,29
	21/07/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	1,60c	21,33	0,45b	4,64
<i>Trichoderma</i>	04/02/04	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
	17/03/04	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
	28/04/04	0,06ab	2,17	0,06ab	1,71	0,00a	0,00	0,30bc	7,83
	08/06/04	1,03c	13,60	0,96c	13,00	1,06c	12,65	0,00a	0,00
	21/07/04	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
Total	04/02/04	5,80d	100	4,60cd	100	1,00a	100	5,75d	100
	17/03/04	3,16cd	100	3,03bc	100	2,23ab	100	1,83a	100
	28/04/04	3,06a	100	3,90a	100	10,96b	100	3,83a	100
	08/06/04	7,60ab	100	7,43ab	100	8,43ab	100	9,33b	100
	21/07/04	3,20b	100	2,03a	100	7,50cd	100	9,70d	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, CL: Cloropicrina, Trich sem: *Trichoderma* semillero, Trich+FERT: *Trichoderma*+FERTILIZER, Trich suelo: *Trichoderma* aplicada al suelo, OP: Óxido de Propileno.

Microbiota fusárica

Los resultados se invierten cuando nos fijamos en la población fusárica aislada, y es que las parcelas donde las plantas fueron estimuladas con diversas modificaciones a la aplicación de *Trichoderma*, la población fusárica creció considerablemente (Tabla 4.B.2.). Por el contrario, en las parcelas que habían sido

desinfectadas mediante métodos químicos, los *Fusaria* fueron controlados (Gráfico B.1.). Misma puntualización que se hiciera para el invernadero P.

Como se aprecia claramente en el Gráfico B.1., todos los tratamientos siguieron los mismos aumentos y descensos en la población fusárica medida a lo largo de los muestreos efectuados durante el ciclo de cultivo. Una vez más, tanto la combinación 1,3-Dic+pic como el bromuro de metilo lograron controlar la microbiota fusárica diferenciándose significativamente del resto de tratamientos ensayados.

Tabla 4.B.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas y porcentaje de cada una respecto del total en el suelo del invernadero B a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Especie	Fecha Muestreo	BM	%	CL	%	TRICH sem	%	TRICH+ SPA	%
<i>F. oxysporum</i>	04/02/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	237,06b	2,14	0,00a	0,00
	17/03/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	9063,39b	24,18	0,00a	0,00
	28/04/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	479,08b	29,44	45,77a	0,36
	08/06/04	174,12a	4,30	0,00a	0,00	1162,87b	19,98	0,00a	0,00
	21/07/04	514,6a	7,85	108,99a	0,56	6753,66b	22,38	9,34a	0,05
<i>F. solani</i>	04/02/04	4708,08abc	100	948,74a	100	10806,70cde	97,70	21639,25e	99,78
	17/03/04	3377,59a	90,34	14550,30b	99,88	28381,69c	75,72	30881,62c	100
	28/04/04	1283,93ab	98,78	957,25a	100	1113,29ab	68,42	12630,73d	99,49
	08/06/04	3717,31bc	91,70	8571,00cd	100	4657,25bc	80,02	11296,26cd	100
	21/07/04	5972,92a	91,13	19419,34c	99,44	23417,89cd	77,62	20163,31bc	99,95
<i>F. roseum</i>	04/02/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	16,83ab	0,15	46,93b	0,22
	17/03/04	361,26b	9,66	17,76ab	0,12	36,48ab	0,10	0,00a	0,00
	28/04/04	15,82ns	1,22	0,00ns	0,00	34,82ns	2,14	19,56ns	0,15
	08/06/04	162,56b	4,01	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	21/07/04	67,00ab	1,02	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
Total	04/02/04	4708,08abc	0,00	948,74a	0,00	11060,60cde	2,14	21686,18e	0,00
	17/03/04	3738,86a	0,00	14568,06b	0,00	37481,57c	24,18	30881,62c	0,00
	28/04/04	1299,75ab	0,00	957,25a	0,00	1627,20ab	29,44	12696,08d	0,36
	08/06/04	4053,99bc	4,30	8571,00cd	0,00	5820,12bc	19,98	11296,26cd	0,00
	21/07/04	6554,54a	7,85	19528,33c	0,56	30171,55d	22,38	20172,65c	0,05
Especie	Fecha Muestreo	TRICH +FERT	%	TRICH SUELO	%	TELONE	%	OP 600	%
<i>F. oxysporum</i>	04/02/04	0,00a	0,00	0,00a	0,00	23,52a	1,94	0,00a	0,00
	17/03/04	0,00a	0,00	40,485a	0,12	0,00a	0,00	51,28a	0,39
	28/04/04	21,05a	0,37	52,21a	0,55	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	08/06/04	0,00a	0,00	40,36a	0,28	19,37a	0,45	65,99a	5,18
	21/07/04	54,52a	0,19	42,73a	0,23	0,00a	0,00	78,87a	0,57

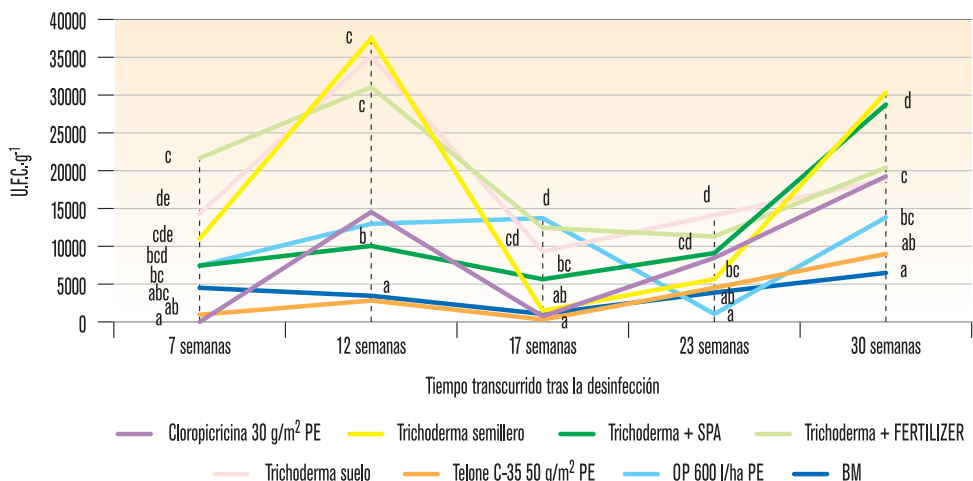
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, CL: Cloropiricina, Trich sem: *Trichoderma* semillero, Trich+FERT: *Trichoderma*+FERTILIZER, Trich suelo: *Trichoderma* aplicada al suelo, OP: Óxido de Propileno.

Tabla 4.B.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas y porcentaje de cada una respecto del total en el suelo del invernadero B a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

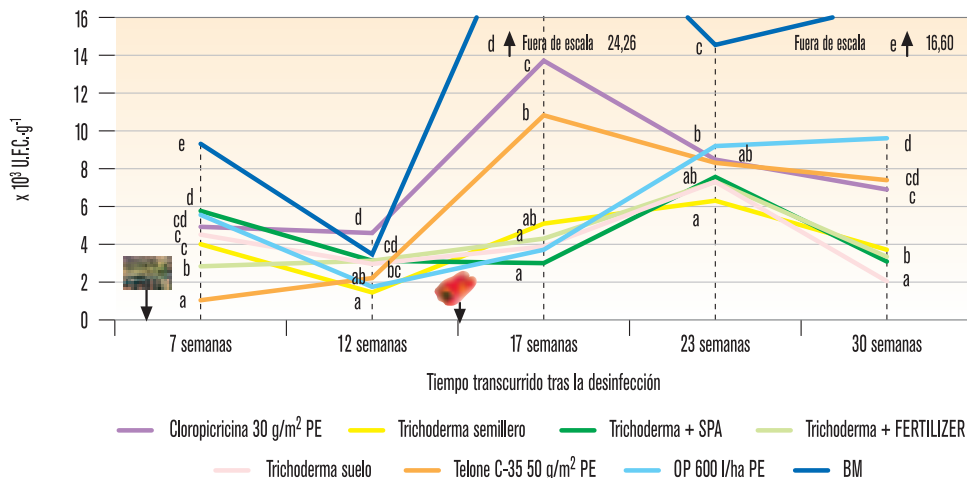
Especie	Fecha Muestreo	TRICH +FERT	%	TRICH SUELO	%	TELONE	%	OP 600	%
<i>F. solani</i>	04/02/04	7625,61abc	99,73	14623,54de	100	1188,95ab	98,06	7577,94bcd	100
	17/03/04	10132,80b	100	34935,58c	99,78	3164,83a	100	12990,83b	98,84
	28/04/04	5735,10bc	99,63	9499,16cd	99,31	453,31a	100	13822,84cd	100
	08/06/04	9111,50cd	100	14137,98d	99,57	4303,86ab	99,55	1177,11a	92,38
	21/07/04	28675,73d	99,81	18738,08bc	99,29	8914,09a	97,19	13742,96b	99,43
<i>F. roseum</i>	04/02/04	20,28ab	0,27	0,00a	0,00	0,00a	0,00	0,00a	0,00
	17/03/04	0,00a	0,00	38,02ab	0,11	0,00a	0,00	101,29ab	0,77
	28/04/04	0,00ns	0,00	13,85ns	0,14	0,00ns	0,00	0,00ns	0,00
	08/06/04	0,00a	0,00	20,04a	0,14	0,00a	0,00	31,13a	2,44
	21/07/04	0,00a	0,00	90,33bc	0,48	257,80c	2,81	0,00a	0,00
Total	04/02/04	7645,90abc	0,00	14623,54de	0,00	1212,47ab	1,94	7577,94bcd	0,00
	17/03/04	10132,80b	0,00	35014,09c	0,12	3164,83a	0,00	13143,41b	0,39
	28/04/04	5756,15bc	0,37	9565,23cd	0,55	453,31a	0,00	13822,84cd	0,00
	08/06/04	9111,50cd	0,00	14198,38d	0,28	4323,24ab	0,45	1274,24a	5,18
	21/07/04	28730,26d	0,19	18871,15c	0,23	9171,90ab	0,00	13821,84bc	0,57

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo, CL: Cloropicrina, Trich sem: *Trichoderma* semillero, Trich+FERT: *Trichoderma*+FERTILIZER, Trich suelo: *Trichoderma* aplicada al suelo, OP: Óxido de Propileno.

Gráficos B.1. y B.2. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero B a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10³.U.F.C.g⁻¹ de suelo seco



Gráficos B.1. y P.B. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero B a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10 3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco



2) Efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción

Campaña 2003/2004

Los resultados obtenidos en el invernadero B, corroboran lo que ya se ha estado afirmando con anterioridad en relación al desarrollo vegetativo de las plantas: que ni Telone C-35 ni la cloropicrina se diferenciaron significativamente del bromuro de metilo. A su vez, todos estos tratamientos tuvieron plantas significativamente más altas que las que estaban sobre suelo desinfectado con óxido de propileno. Pero todos los tratamientos se diferenciaron significativamente de aquellas plantas que habían sido estimuladas con *Trichoderma*, independientemente de la forma de aplicación. Además, éstas últimas fueron las que soportaron los mayores niveles de población fusárica en el suelo (como se recordará de el Gráfico B.1.).

Tal y como se muestra en el Gráfico B.4., cuando se dan patógenos de suelo, como es el caso del invernadero B, infestado por *Phytophthora capsici* y *Meloidogyne incognita*, la aplicación de *Trichoderma* a las plantas no influyó en absoluto en alcanzar una producción (apenas 6 kg·m⁻²) ni siquiera similar a los demás desinfectantes empleados. Ni en cuanto a la precocidad de la producción ni en cuanto a la producción acumulada.

Gráfico B.3. Variación de la altura de las plantas en el invernadero B. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x)$

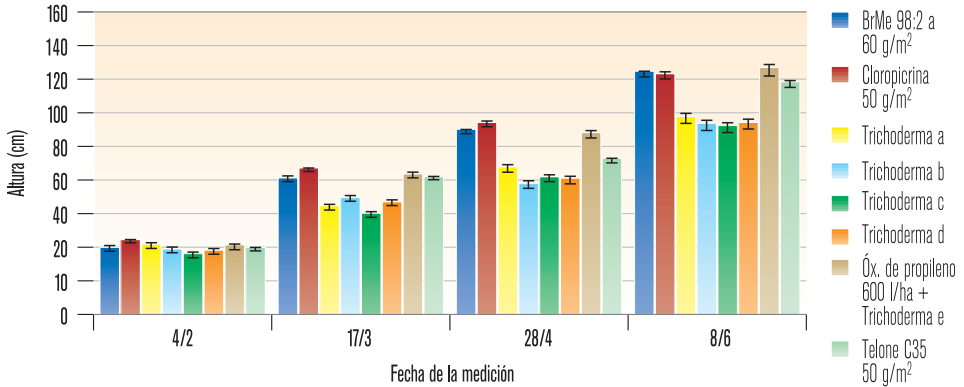


Gráfico B.4. Producción comercial media acumulada en el invernadero B. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$

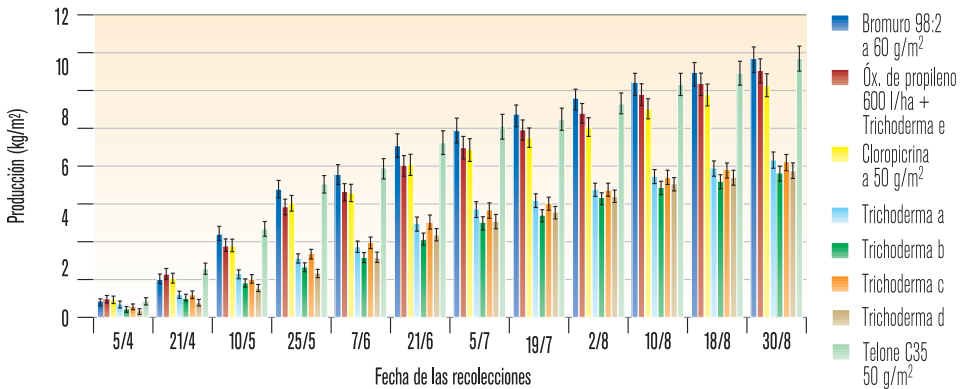
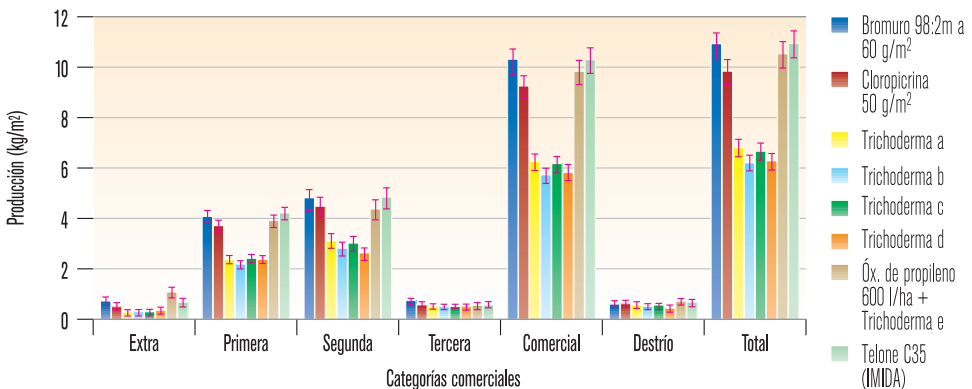


Gráfico B.5. Producción media por categorías comerciales en el invernadero B. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



En cuanto a las categorías comerciales de los frutos recolectados, no hubo diferencias entre el Telone C-35 y el óxido de propileno con el bromuro de metilo. Tampoco entre el óxido de propileno y la cloropicrina. Sin embargo, todos permitieron obtener producciones superiores a las alcanzadas por las plantas estimuladas por *Trichoderma* (Gráfico B.5.).

De nuevo, a la vista de los resultados mostrados, el único elemento común que tuvieron las parcelas cuyas plantas fueron estimuladas con *Trichoderma* fueron las enormes densidades fusáricas de los suelos, superiores en todos los casos y muestreos a las 10.000 U.F.C.:g⁻¹ de suelo (mucho mayores a todos los resultados mostrados).

INVERNADERO O

1) Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos

Campaña 2003/2004

Microbiota total

Las mayores densidades de hongos aisladas en cualquiera de los tratamientos, pertenecieron al género *Aspergillus* spp. con proporciones en todos los casos, superiores al 60%, y en su mayoría entorno al 80%, seguido en importancia por la especie *F. solani* y *Rhizopus* spp.. Anecdótica fue la presencia de *Penicillium* spp., y lo más curioso; *Trichoderma* spp. prácticamente sólo se aisló de las muestras de suelo a cuyas plántulas el hongo se había aplicado en el trasplante, pero en proporciones siempre inferiores al 10% frente al resto de géneros aislados, excepto en el muestreo correspondiente al mes de mayo con 20%± (Tabla 4.O.1.).

Las parcelas de este invernadero en las que se aplicó *Trichoderma* spp. en el momento del trasplante mediante el riego, fueron las que menor densidad de poblaciones fúngicas soportaron en todos los muestreos realizados a lo largo del cultivo respecto de las otras dos variantes estudiadas, con la excepción del propio género *Trichoderma* spp.. No hubo diferencias significativas entre las parcelas testigo y las que soportaron plantas con aportación de *Trichoderma* spp. en el semillero.

Generalizando, podemos afirmar que no existieron diferencias significativas entre las parcelas no tratadas con ningún producto y las que tuvieron un aporte de *Trichoderma* en su sistema radicular ya fuera en el semillero, ya en el trasplante, en cuanto al número total de hongos aislados, a excepción del último muestreo al final del cultivo (Gráfico O.2.).

Tabla 4.0.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero 0 y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en 10^3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco*

Género	Fecha Muestreo	Testigo	%	<i>Trichoderma</i> semillero	%	<i>Trichoderma</i> trasplante	%
<i>Aspergillus</i>	14/01/04	19,96b	82,05	15,83a	73,76	14,03a	74,12
	25/02/04	14,63ab	82,67	17,96b	86,94	14,36a	82,25
	07/04/04	15,27b	88,93	9,53a	66,98	9,50a	71,61
	19/05/04	10,86b	79,71	7,80a	65,73	10,53ab	69,00
	01/07/04	15,36b	80,88	14,83b	85,41	8,13a	60,55
	11/08/04	33,93b	99,41	13,63a	92,33	11,73a	92,63
	<i>F. solani</i>	14/01/04	3,30ab	13,56	4,50b	20,96	2,33a
25/02/04		1,90b	10,73	1,40ab	6,77	0,80a	4,58
07/04/04		1,33a	7,77	3,76b	26,46	2,13a	16,0
19/05/04		1,76ns	12,96	1,90ns	16,01	1,50ns	9,83
01/07/04		2,66b	14,04	1,53a	8,83	3,56b	26,55
11/08/04		0,06ns	0,20	0,36ns	2,48	0,33ns	2,63
<i>Rhizopus</i>		14/01/04	1,06ns	4,38	0,90ns	4,19	1,06ns
	25/02/04	1,03ns	5,84	1,20ns	5,81	0,66ns	3,82
	07/04/04	0,36ns	2,14	0,53ns	3,75	0,46ns	3,52
	19/05/04	1,00a	7,33	1,86b	15,73	0,70a	4,59
	01/07/04	0,93ns	4,91	0,76ns	4,41	1,00ns	7,44
	11/08/04	0,10a	0,29	0,73b	4,97	0,43ab	3,42
	<i>Penicillium</i>	14/01/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns
25/02/04		0,13ns	0,75	0,10ns	0,48	0,13ns	0,76
07/04/04		0,20b	1,17	0,16b	1,17	0,00a	-
19/05/04		0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
01/07/04		0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
11/08/04		0,03ns	0,10	0,03ns	0,23	0,06ns	0,53
<i>Trichoderma</i>		14/01/04	0,00a	-	0,23a	1,09	1,50b
	25/02/04	0,00a	-	0,00a	-	1,50b	8,59
	07/04/04	0,00a	-	0,23a	1,64	1,16b	8,79
	19/05/04	0,00a	-	0,30a	2,53	2,53b	16,59
	01/07/04	0,03a	0,18	0,23a	1,34	0,73b	5,46
	11/08/04	0,00a	-	0,00a	-	0,10b	0,79
	Total	14/01/04	24,33 b	100	21,46ab	100	18,93a
25/02/04		17,70a	100	20,66b	100	17,46a	100
07/04/04		17,16b	100	14,23ab	100	13,26a	100
19/05/04		13,63ns	100	11,86ns	100	15,26ns	100
01/07/04		19,00b	100	17,36ab	100	13,43a	100
11/08/04		34,13b	100	14,76a	100	12,66a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos de cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$.

Particularizando en cuanto a las especies de hongos contabilizadas, *Aspergillus* spp. fue significativamente mayor en las parcelas que actuaron de testigo

frente al resto, pero no ocurrió así con los demás hongos entre los que no hubo diferencias significativas.

En cuanto al género *Trichoderma*, éste se detectó mayoritariamente en las parcelas cuyas plántulas fueron tratadas en el trasplante.

Cabe señalar que aunque son numerosos los estudios llevados a cabo con el género *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol, son muy escasos los realizados en condiciones de campo. Aún así, algunos autores como AZPILICUETA *et al.* (2002) señalan su éxito para el control de enfermedades en el cultivo de fresa mediante filtrados proteicos del hongo. En su caso, las aplicaciones se efectuaron antes de la plantación sumergiendo las plántulas en las soluciones, y durante el cultivo, realizando pulverizaciones foliares quincenales.

Tal y como aseguran AZPILICUETA *et al.* (2002), los tratamientos con los filtrados proteicos de *Trichoderma* spp. fueron significativamente superiores en número y peso de los frutos de calibre comercial frente al testigo, pero los trabajos realizados no permiten confirmar el efecto de control de patógenos. Prueba de ello es que, en ensayos realizados en cultivos como el aguacate para el control de *Phytophthora cinamomi* con productos de biocontrol como *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas cepacia* y *Trichoderma harzianum*, ninguno ha sido capaz de controlar la enfermedad en campo mientras que sí redujeron significativamente el crecimiento de *P. cinamomi* en condiciones *in vitro* en enfrentamientos en placa (GONZÁLEZ *et al.*, 2002).

Microbiota fusárica

Curiosamente, en el primer muestreo realizado en el invernadero, las parcelas donde no se añadió ningún formulado fueron las que mostraron menores poblaciones de *Fusarium*, contrariamente a lo que sucedió en el resto de muestreos en donde fueron significativamente mayores en dos de ellos (Tabla 4.0.2.).

Sólo hubo diferencias significativas entre el testigo y las parcelas donde se aplicó *Trichoderma*, bien en el trasplante, bien en el semillero, en el muestreo efectuado a principios de abril (13 semanas después de la desinfección), donde las poblaciones tuvieron un acusado aumento.

El momento de aplicación de la *Trichoderma*, no influyó en la colonización del suelo por parte de los *Fusaria* a lo largo del cultivo, salvo en el primer muestreo realizado tras la plantación donde se detectaron más colonias en las aplicadas en el momento del trasplante.

Tabla 4.0.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero O y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2003/2004, expresada en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco*

Género	Fecha Muestreo	Testigo	%	<i>Trichoderma</i> semillero	%	<i>Trichoderma</i> trasplante	%
<i>F. oxysporum</i>	14/01/04	56,77a	7,27	75,67a	6,37	120,31b	7,00
	25/02/04	81,16a	4,50	258,68b	11,14	78,23a	5,62
	07/04/04	134,26b	1,08	23,96a	2,03	11,27a	0,82
	19/05/04	41,39a	2,11	166,92b	7,62	297,09b	12,12
	01/07/04	139,83c	4,58	39,05a	1,43	85,79b	3,73
	11/08/04	9,06ns	0,30	15,46ns	0,52	14,30ns	0,42
	<i>F. solani</i>	14/01/04	723,84a	92,73	1112,36b	93,63	1599,29c
25/02/04		1720,93ns	95,35	2060,90ns	88,78	1313,71ns	94,38
07/04/04		12257,34b	98,92	1154,57a	97,97	1357,43a	99,18
19/05/04		1916,84ns	97,89	2023,37ns	92,38	2153,09ns	87,81
01/07/04		2909,10ns	95,37	2681,05ns	98,39	2212,43ns	96,08
11/08/04		3008,32ns	99,70	2932,26ns	99,48	3365,76ns	99,58
<i>F. roseum</i>		14/01/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns
	25/02/04	2,67ns	0,15	1,79ns	0,08	0,00ns	-
	07/04/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	19/05/04	0,00ns	-	0,00ns	-	1,93ns	0,08
	01/07/04	1,53ns	0,05	4,94ns	0,18	4,43ns	0,19
	11/08/04	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-
	Total	14/01/04	780,61a	100	1188,04b	100	1719,60c
25/02/04		1804,76ns	100	2321,38ns	100	1391,94ns	100
07/04/04		12391,60b	100	1178,53a	100	1368,71a	100
19/05/04		1958,23ns	100	2190,30ns	100	2452,13ns	100
01/07/04		3050,47b	100	2725,05ab	100	2302,66a	100
11/08/04		3017,38ns	100	2947,73ns	100	3380,07ns	100

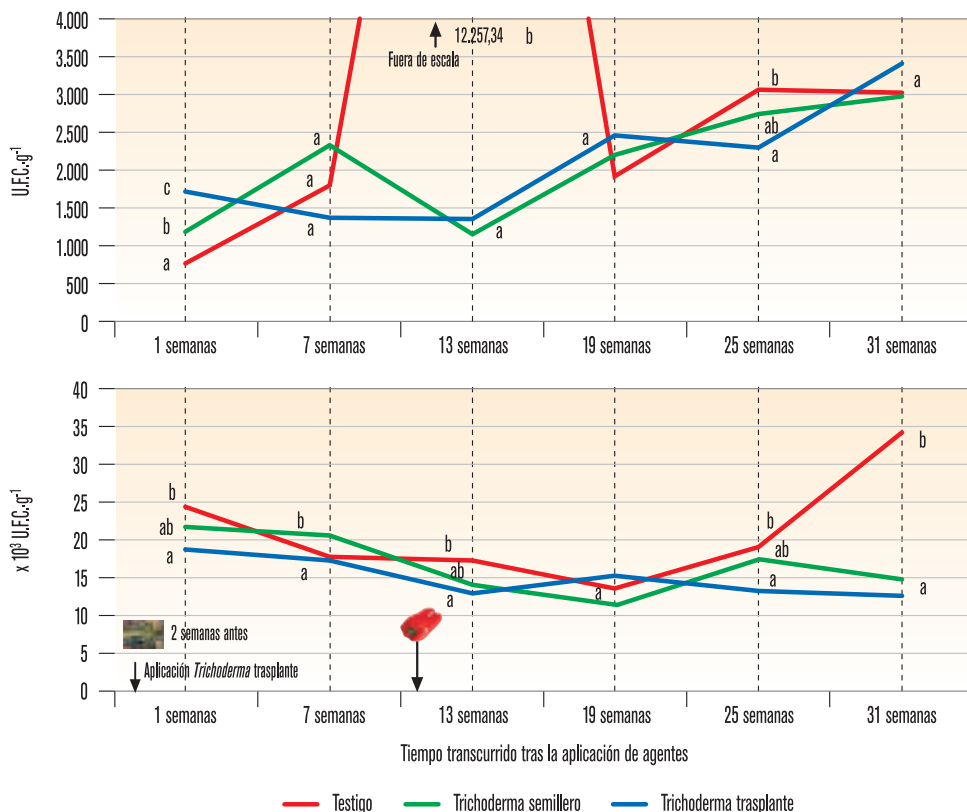
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$.

Las mayores densidades del género correspondieron a la especie *F. solani* con proporciones situadas siempre por encima del 85% respecto al resto de especies aisladas sistemáticamente en los análisis.

Como puede apreciarse, la forma de aplicación de los formulados de *Trichoderma* spp. no influyó en la colonización de las poblaciones de *Fusarium* a lo largo del cultivo, aunque sí que hubo diferencias significativas en el primer muestreo realizado en las parcelas cuyas plantas fueron tratadas con *Trichoderma* spp. en el momento del trasplante (Gráfico O.1.).

La especie de *Fusarium* spp. habitualmente aislada fue *F. solani*, con porcentajes de aislamiento superiores al 85% (Tabla 4.0.2. y Gráfico O.1.).

Gráficos 0.1. y 0.2. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero O a lo largo de la campaña 2003/2004, expresado en U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10 3 U.F.C. \cdot g $^{-1}$ de suelo seco



2) Efecto de diferentes tratamientos del suelo sobre el desarrollo vegetativo de las plantas y la producción

Campaña 2003/2004

En el invernadero O, con ausencia de patógenos de suelo, el desarrollo vegetativo de las plantas que fueron estimuladas con *Trichoderma* spp. en el semillero resultó ser significativamente similar al de las parcelas testigo. Ambas se diferenciaron significativamente de las plantas cuya aplicación de *Trichoderma* spp. se realizó en el trasplante (Gráfico 0.3).

Los resultados de la producción obtenida revelaron que no hubo diferencias significativas de los tratamientos ensayados en relación al testigo, ni en cuanto a la precocidad en la recolección ni en la total (Gráfico 0.4.). Tampoco las hubo de acuerdo a las categorías comerciales (Gráfico 0.5.).

Gráfico 0.3. Variación de la altura de las plantas en el invernadero O. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x)$

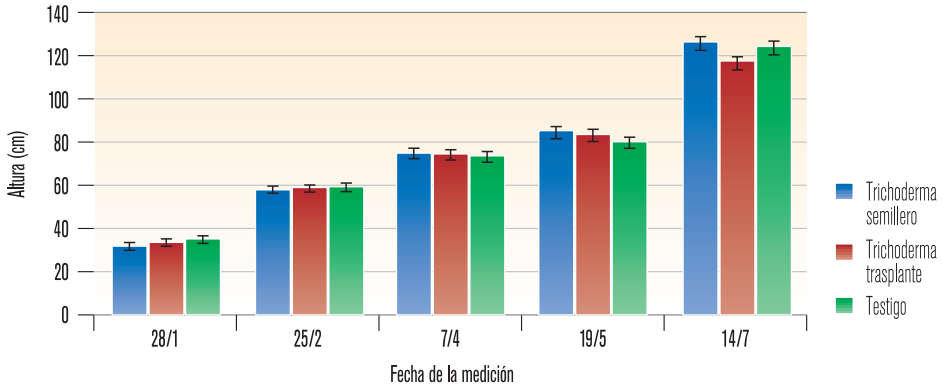


Gráfico 0.4. Producción comercial media acumulada en el invernadero O. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$

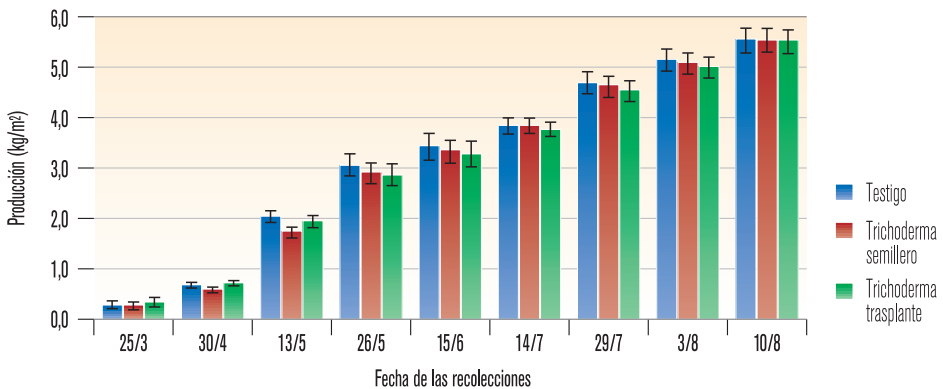
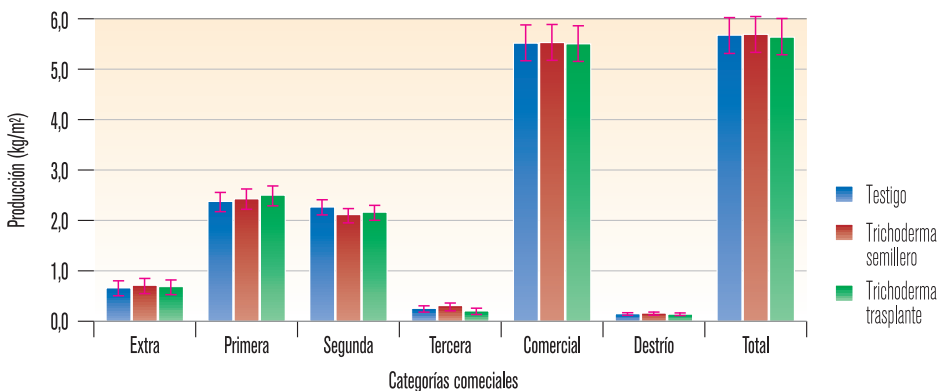


Gráfico 0.5. Producción media por categorías comerciales en el invernadero O. Campaña 2003/2004. Intervalos LSD al 95% con los datos transformados con $\text{Log}_{10}(x+1)$



INVERNADERO Q**1) Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos****Campaña 2001/2002***Microbiota total*

En cuanto a los resultados de los análisis para conocer la microbiota total, los suelos que se desinfectaron con metam sodio y que también habían sido solarizados, soportaron ligeramente mayor número de hongos y mayor diversidad de géneros a lo largo del cultivo respecto al resto de tratamientos, especialmente respecto al bromuro de metilo que soportó gran densidad de *Aspergillus* spp. (Tabla 4.Q.1. y Gráfico Q.2.), aunque ambos tratamientos tuvieron la misma tendencia en cuanto a la densidad fúngica soportada en sus suelos.

Las parcelas cuyas plántulas habían sido tratadas en el semillero con *Trichoderma* (*Trichoderma* 1) posibilitaron una mayor colonización de *Trichoderma* spp. respecto a las aplicadas en el momento del trasplante (*Trichoderma* 2), especialmente, en el penúltimo muestreo realizado (Tabla 4.Q.1.).

Al final del cultivo, las mayores densidades de *Fusarium* spp. se dieron en las parcelas bromuradas, que mostraron diferencias significativas con las parcelas donde se había aplicado *Trichoderma* en polvo a las plantas.

Tabla 4.Q.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero Q y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2001/2002, expresada en 10^3 .U.F.C. $^{-1}$ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM	%	SOL+ Metam Na	%	SOL+ <i>Tri- choderma</i> 1	%	SOL+ <i>Tri- choderma</i> 2	%
<i>Aspergillus</i>	24/01/02	4,90c	89,09	0,15a	42,86	0,28b	11,43	2,54c	39,16
	04/03/02	2,78ns	91,23	0,46ns	64,12	1,20ns	11,35	1,00ns	13,42
	04/04/02	5,60b	47,06	2,77b	18,25	2,10a	23,60	1,40a	25,81
	02/05/02	4,83c	81,09	1,75ab	26,42	2,53b	33,44	0,95a	22,75
	30/05/02	9,68b	71,40	11,20b	88,54	23,35c	87,21	4,78a	69,20
	11/07/02	18,80b	57,76	19,50b	80,16	2,58a	29,60	1,83a	21,28
<i>F. solani</i>	24/01/02	0,00ns	-	0,03ns	7,14	0,00ns	-	0,15ns	2,31
	04/03/02	0,08a	2,47	0,03a	3,44	1,60b	15,13	2,00c	26,85
	04/04/02	1,08ab	9,03	0,80a	5,28	1,77b	19,85	0,95ab	17,51
	02/05/02	0,28a	4,62	1,80b	27,17	1,55b	20,53	0,13a	2,99
	30/05/02	1,28b	9,41	0,98b	7,71	1,53b	5,70	0,18a	2,54
	11/07/02	4,55b	13,98	1,48a	6,06	1,33a	15,23	2,93b	34,11

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. Sol: Solarización, BM: Bromuro de metilo, *Trichoderma* 1: *Trichoderma* aplicada en el semillero, *Trichoderma* 2: *Trichoderma* aplicada en el trasplante.

Tabla 4.Q.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero Q y porcentaje respecto del total a lo largo de la campaña 2001/2002, expresada en 10³.U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM	%	SOL+ Metam Na	%	SOL+ <i>Tri- choderma</i> 1	%	SOL+ <i>Tri- choderma</i> 2	%
<i>Rhizopus</i>	24/01/02	0,25a	4,55	0,10a	28,57	0,20a	8,00	2,00b	30,77
	04/03/02	0,17b	5,48	0,11a	15,27	0,00a	-	0,00a	-
	04/04/02	0,75b	6,30	0,14b	0,94	0,00a	-	0,03a	0,46
	02/05/02	0,30a	5,04	0,18a	2,64	0,00a	-	1,05b	25,15
	30/05/02	1,70b	12,55	0,45a	3,56	0,38a	1,40	0,60a	8,70
	11/07/02	0,43b	1,31	0,55b	2,26	0,50b	5,75	0,00a	-
<i>Trichoderma</i>	24/01/02	0,05a	0,91	0,00a	-	0,38a	15,00	1,63b	25,00
	04/03/02	0,03a	0,82	0,08a	10,31	4,93c	46,57	3,25b	43,62
	04/04/02	0,10a	0,84	0,43a	2,80	4,75c	53,37	2,98b	54,84
	02/05/02	0,35a	5,88	0,00a	-	3,48c	46,03	2,05b	49,10
	30/05/02	0,08a	0,55	0,03a	0,20	1,48b	5,51	1,28b	18,48
	11/07/02	1,38b	4,22	0,00a	-	4,30c	49,43	3,83c	44,61
<i>Penicillium</i>	24/01/02	0,30ns	5,45	0,08ns	21,43	0,00ns	-	0,20ns	3,08
	04/03/02	0,00ns	-	0,05ns	6,87	0,00ns	10,31	0,00ns	-
	04/04/02	4,38b	36,76	11,03c	72,73	0,05a	2,80	0,08a	1,38
	02/05/02	0,20a	3,36	2,90b	43,77	0,00a	-	0,00a	-
	30/05/02	0,83b	6,09	0,00a	-	0,05a	0,20	0,08a	1,09
	11/07/02	7,40c	22,73	2,80b	11,51	0,00a	-	0,00a	-
Total	24/01/02	5,50c	100	0,42a	100	0,86b	100	6,52d	100
	04/03/02	3,06b	100	0,73a	100	7,73d	100	6,25c	100
	04/04/02	11,91b	100	15,17c	100	8,67ab	100	5,44a	100
	02/05/02	5,96ab	100	6,63c	100	7,56b	100	4,18a	100
	30/05/02	13,57b	100	12,63b	100	26,79c	100	6,92a	100
	11/07/02	32,56b	100	24,33b	100	8,71a	100	8,59a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. Sol: Solarización, BM: Bromuro de metilo, *Trichoderma* 1: *Trichoderma* aplicada en el semillero, *Trichoderma* 2: *Trichoderma* aplicada en el trasplante.

Microbiota fusárica

Los análisis de varianza muestran que la población fusárica se vio alterada en el mismo sentido a lo largo de todo el ciclo de cultivo en todos los tratamientos realizados.

En el primer muestreo realizado, se aprecia que no existen diferencias significativas entre las parcelas donde las plantas fueron estimuladas con *Trichoderma* 1 y el metam sodio y el bromuro de metilo (BM), ni entre el metam sodio y *Trichoderma* 2 (Tabla 4.Q.2.).

Como sucediera al analizar la microbiota fúngica total, el metam sodio tuvo un comportamiento sobre las poblaciones fusáricas muy similar al del bromuro de

metilo. De este último, cabe destacar la acumulación observada en el último muestreo, correspondiendo con el arranque del cultivo (Gráfico Q.1.).

Una vez más, se remarca la proporción de *F. solani* (valores siempre entorno al 100% excepto en las parcelas tratadas con BM y más concretamente, en el muestreo realizado a principios de mayo) respecto de las otras dos especies frecuentemente aisladas.

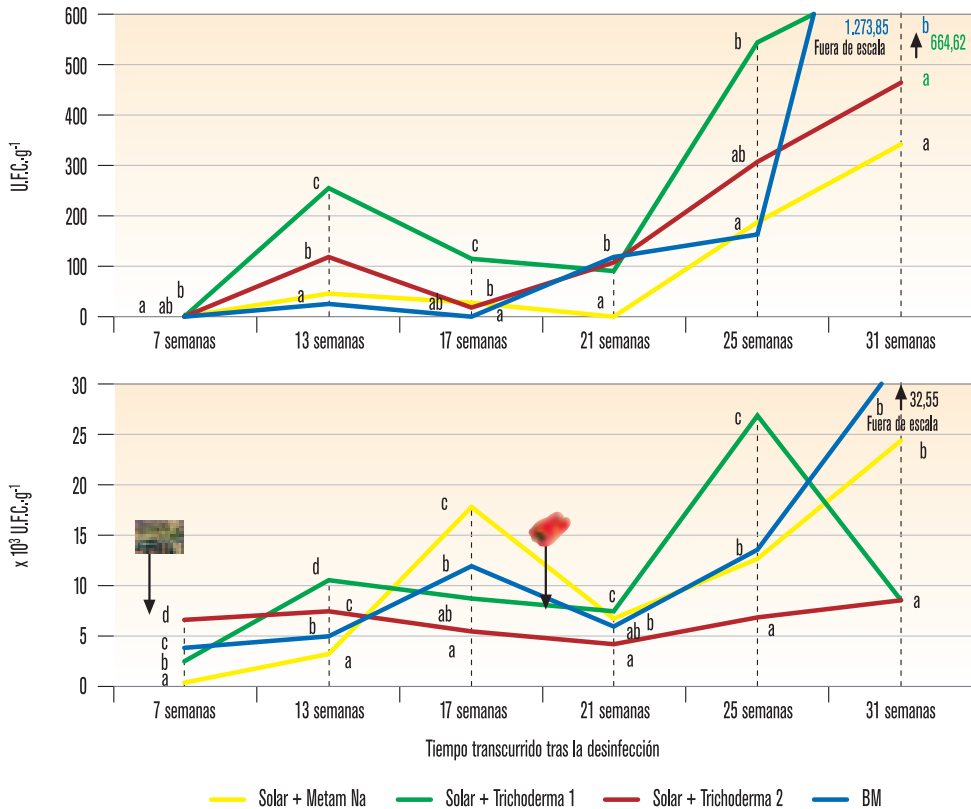
La aplicación de *Trichoderma* 1 sí influyó en la detección de mayores densidades de *Fusarium* respecto al resto de tratamientos, presentando diferencias significativas incluso respecto a *Trichoderma* 2 en prácticamente todos los muestreos realizados.

Tabla 4.Q.2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero Q y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2001/2002, expresada en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM	%	SOL+ Metam Na	%	SOL+ <i>Tri- choderma</i> 1	%	SOL+ <i>Tri- choderma</i> 2	%
<i>F. oxysporum</i>	25/01/02	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	0,00
	04/03/02	0,63ns	2,15	0,00ns	-	1,68ns	0,66	3,03ns	2,56
	04/04/02	0,00a	-	0,00a	-	1,50b	1,29	0,00a	0,00
	02/05/02	8,24b	7,16	0,00a	-	0,00a	0,00	1,76ab	1,61
	30/05/02	1,71ns	1,02	1,93ns	1,03	6,33ns	1,15	8,78ns	2,83
	11/07/02	21,45b	1,68	9,20ab	2,71	2,37a	0,36	3,98a	0,85
	<i>F. solani</i>	25/01/02	0,00a	-	1,80ab	100	0,00a	-	4,28b
04/03/02		25,84a	87,98	46,87a	98,43	250,37c	98,66	113,32b	95,79
04/04/02		9,18a	87,26	31,96b	100	113,60c	97,73	21,32ab	98,20
02/05/02		52,24b	45,38	7,35a	100	93,15b	98,20	106,18b	97,21
30/05/02		149,52a	89,32	183,72ab	97,95	539,51b	98,40	290,92c	93,66
11/07/02		1222,34b	95,96	327,51a	96,60	662,24a	99,64	462,52a	99,15
<i>F. roseum</i>		25/01/02	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns	-	0,00ns
	04/03/02	2,90ns	9,87	0,75ns	1,57	1,69ns	0,67	1,95ns	1,65
	04/04/02	1,34ns	12,74	0,00ns	-	1,13ns	0,97	0,39ns	1,80
	02/05/02	54,63b	47,46	0,00a	-	1,69a	1,78	1,29a	1,18
	30/05/02	16,16ns	9,65	1,91ns	1,02	2,38ns	0,43	10,91ns	3,51
	11/07/02	30,01b	2,36	2,33a	0,69	0,00a	-	0,00a	0,00
	Total	25/01/02	0,00a	100	1,80ab	100	0,00a	100	4,28b
04/03/02		29,37a	100	47,62a	100	253,76c	100	118,32b	100
04/04/02		10,52a	100	31,96b	100	116,23c	100	21,71ab	100
02/05/02		115,12b	100	7,35a	100	94,85b	100	109,24b	100
30/05/02		167,40a	100	187,57ab	100	548,23c	100	310,62b	100
11/07/02		1273,81b	100	339,04a	100	664,62a	100	466,50a	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. Sol: Solarización, BM: Bromuro de metilo, *Trichoderma* 1: *Trichoderma* aplicada en el semillero, *Trichoderma* 2: *Trichoderma* aplicada en el trasplante.

Gráficos Q.1. y Q.2. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero Q a lo largo de la campaña 2001/2002, expresado en U.F.C.g⁻¹ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10³.U.F.C.g⁻¹ de suelo seco



En el último muestreo llevado a cabo, las parcelas que se habían desinfectado con bromuro de metilo fueron las que soportaron las mayores densidades de *Fusarium*, diferenciándose significativamente del resto de parcelas tratadas.

INVERNADERO Q'

1) Efecto del cultivo sobre la microbiota fúngica no patógena aislada en la zona colonizada por las raíces en suelos con diferentes tratamientos

Campaña 2002/2003

Microbiota total

El comportamiento de tratamientos como el del metam sodio, ya fuese aplicado en frío o no, el del pasto del Sudán o la aplicación de *Trichoderma* spp. fue muy similar.

El Pasto del Sudán (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf cv. Piper) también fue empleado por BEJARANO-ALCÁZAR (2004) para el control de *Verticillium dahliae* en sustratos de uso frecuente en viveros de olivo en la fase de crianza de los plantones.

Donde mayor número de colonias de hongos se aislaron fue en las parcelas bromuradas (Tabla 4.Q!2. y Gráfico Q!2.). Las parcelas cuyos suelos fueron enmendados con restos de caña de azúcar (biosugar) tuvieron mayores proporciones de *Aspergillus* spp. y de *F. solani* que del resto de géneros aislados y lo mismo ocurrió en los demás tratamientos. *Trichoderma* spp. sólo se aisló prácticamente en las parcelas que habían sido tratadas con dicho hongo con apariciones anecdóticas en muestras provenientes del resto de parcelas.

Microbiota fusárica

Contrariamente a lo que cabría esperar al hacer la desinfección, se detectaron grandes densidades de hongos en todos los tratamientos pero, especialmente, con el bromuro de metilo (Tabla 4.Q!2.). En los muestreos posteriores, las densidades fueron disminuyendo progresivamente aunque se mantuvieron altas. Al comparar la influencia en la aplicación del metam sodio en frío o no, se observa que de aquélla forma se aislaron más colonias de *Fusarium* que sin él. Sin embargo, sucedió lo contrario en lo referente a la microbiota total (Gráfico Q!2.).

En el último muestreo efectuado, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. *F. solani* fue nuevamente la mayor especie aislada del género.

Las enmiendas orgánicas aportadas no tuvieron prácticamente ninguna influencia sobre las poblaciones fusáricas, no diferenciándose tampoco significativamente de las parcelas donde se aplicaron formulados de *Trichoderma* spp.

De acuerdo con BEN-YEPHET y FRANK (1989), el metam sodio controla *Verticillium dahliae* y *Fusarium oxysporum* (KRITZMAN y BEN-YEPHET, 1989) así como otros patógenos de suelo. Asimismo, está relacionado con la textura del suelo, pues admite concentraciones más diluidas en suelos de textura más arenosa.

Tabla 4.Q'1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero Q' y porcentaje de cada uno respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en 10³.U.F.C.g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM	%	Biosugar	%	Pasto del Sudán	%
<i>Aspergillus</i>	13/01/03	10,05c	35,26	4,55b	37,92	1,80a	7,81
	26/02/03	1,95ab	11,11	1,70a	25,19	3,05b	24,90
	09/04/03	20,40c	46,74	9,80b	48,88	2,35a	21,56
	21/05/03	1,50ab	15,79	2,65b	23,45	1,05ab	9,59
	02/07/03	30,35d	87,84	22,95c	75,00	6,50b	63,73
	30/07/03	3,60ab	19,67	1,95a	37,86	19,50d	80,25
<i>F. solani</i>	13/01/03	14,45d	50,70	7,10bc	59,17	20,90d	90,67
	26/02/03	4,60b	26,21	4,95b	73,33	7,90c	64,49
	09/04/03	20,80e	47,65	8,60d	42,89	7,80cd	71,56
	21/05/03	5,70b	60,00	6,45b	57,08	9,50b	86,76
	02/07/03	2,45b	7,09	4,55c	14,87	1,20a	11,76
	30/07/03	10,15c	55,46	2,55a	49,51	4,20b	17,28
<i>Rhizopus</i>	13/01/03	3,85b	13,51	0,35a	2,92	0,35a	1,52
	26/02/03	10,50b	59,83	0,10a	1,48	0,45a	3,67
	09/04/03	1,80b	4,12	1,05b	5,24	0,35a	3,21
	21/05/03	1,80b	18,95	1,65b	14,60	0,40ab	3,65
	02/07/03	1,65b	4,78	0,60a	1,96	0,30a	2,94
	30/07/03	3,05c	16,67	0,40a	7,77	0,45a	1,85
<i>Penicillium</i>	13/01/03	0,15ns	0,53	0,00ns	-	0,00ns	-
	26/02/03	0,40ab	2,28	0,00a	-	0,70b	5,71
	09/04/03	0,40ab	0,92	0,60b	2,99	0,40ab	3,67
	21/05/03	0,50b	5,26	0,55b	4,87	0,00a	0,00
	02/07/03	0,05a	0,14	2,00c	6,54	1,25bc	12,25
	30/07/03	1,40b	7,65	0,15a	2,91	0,10a	0,41
<i>Trichoderma</i>	13/01/03	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
	26/02/03	0,10a	0,57	0,00a	-	0,15a	1,22
	09/04/03	0,25a	0,57	0,00a	-	0,00a	-
	21/05/03	0,00a	-	0,00a	-	0,00a	-
	02/07/03	0,05a	0,14	0,50ab	1,63	0,95b	9,31
	30/07/03	0,10a	0,55	0,10a	1,94	0,05a	0,21
Total	13/01/03	28,50d	100	12,00ab	100	23,05c	100
	26/02/03	17,55d	100	6,75b	100	12,25c	100
	09/04/03	43,65c	100	20,05b	100	10,90a	100
	21/05/03	9,50ab	100	11,30b	100	10,95b	100
	02/07/03	34,55c	100	30,60c	100	10,20a	100
	30/07/03	18,30c	100	5,15a	100	24,30d	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.Q'.1. Variación de la densidad de los distintos géneros de hongos aislados en el suelo del invernadero Q' y porcentaje de cada uno respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en 10³.U.F.C.g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/ Especie	Fecha Muestreo	Metam Na	%	<i>Trichoderma</i>	%	Metam Na frío	%
<i>Aspergillus</i>	13/01/03	1,30a	11,11	0,75a	13,51	0,95a	52,78
	26/02/03	2,30ab	25,27	2,15ab	25,29	1,75a	56,45
	09/04/03	2,00a	39,60	1,80a	21,82	1,10a	15,71
	21/05/03	7,80c	52,35	0,40a	6,90	2,80b	13,49
	02/07/03	17,35c	84,84	0,95a	12,18	2,05ab	19,16
	30/07/03	8,80c	46,56	4,90bc	27,53	6,95bc	77,22
<i>F. solani</i>	13/01/03	10,40c	88,89	4,25b	76,58	0,75a	41,67
	26/02/03	5,45b	59,89	2,75a	32,35	1,20a	38,71
	09/04/03	2,50a	49,50	5,15b	62,42	5,55bc	79,29
	21/05/03	5,25b	35,23	1,55a	26,72	16,60c	80,00
	02/07/03	2,25ab	11,00	3,10bc	39,74	6,85d	64,02
	30/07/03	8,30c	43,92	10,30c	57,87	1,25a	13,89
<i>Rhizopus</i>	13/01/03	0,00a	-	0,25a	4,50	0,05a	2,78
	26/02/03	0,90a	9,89	0,35a	4,12	0,15a	4,84
	09/04/03	0,35ab	6,93	0,10a	1,21	0,00a	-
	21/05/03	0,80a	5,37	0,40a	6,90	0,95ab	4,58
	02/07/03	0,50a	2,44	0,65a	8,33	0,65a	6,07
	30/07/03	0,50a	2,65	2,05b	11,52	0,25a	2,78
<i>Penicillium</i>	13/01/03	0,00ns	-	0,00ns	-	0,05ns	2,78
	26/02/03	0,35ab	3,85	0,00a	-	0,00a	-
	09/04/03	0,20ab	3,96	0,05a	0,61	0,10a	1,43
	21/05/03	1,05b	7,05	0,00a	-	0,00a	-
	02/07/03	0,35ab	1,71	0,00a	-	1,15bc	10,75
	30/07/03	1,25b	6,61	0,40a	2,25	0,00a	-
<i>Trichoderma</i>	13/01/03	0,00a	-	0,30b	5,41	0,00a	-
	26/02/03	0,10a	1,10	3,25b	38,24	0,00a	-
	09/04/03	0,00a	-	1,15b	13,94	0,25a	3,57
	21/05/03	0,00a	-	3,45b	59,48	0,40a	1,93
	02/07/03	0,00a	-	3,10c	39,74	0,00a	-
	30/07/03	0,05a	0,26	0,15a	0,84	0,55b	6,11
Total	13/01/03	11,70c	100	5,55b	100	1,80a	100
	26/02/03	9,10b	100	8,50b	100	3,10a	100
	09/04/03	5,05a	100	8,25a	100	7,00a	100
	21/05/03	14,90bc	100	5,80a	100	20,75c	100
	02/07/03	20,45b	100	7,80a	100	10,70a	100
	30/07/03	18,90c	100	17,80c	100	9,00b	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0.5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.Q'2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero Q' y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en U.F.C.·g⁻¹ de suelo seco*

Género/ Especie	Fecha Muestreo	BM	%	Biosugar	%	Pasto Sudán	%
<i>F. oxysporum</i>	13/01/03	941,28b	9,58	180,14a	2,66	92,02a	1,19
	26/02/03	4,86a	0,30	59,91b	1,65	5,86a	0,66
	09/04/03	28,25a	1,52	139,32b	3,91	25,26a	2,26
	21/05/03	26,76a	1,16	17,91a	2,20	46,22a	8,57
	02/07/03	0,00a	-	0,00a	-	101,55b	39,34
	30/07/03	21,00b	1,27	1,41a	0,09	71,93c	4,20
<i>F. solani</i>	13/01/03	8856,41d	90,15	6595,88cd	97,34	7119,93cd	91,89
	26/02/03	1570,93b	97,58	3219,07c	88,81	801,87a	89,68
	09/04/03	1664,40c	89,75	3112,58d	87,33	989,55b	88,56
	21/05/03	2150,38ab	92,95	689,16a	84,46	418,83a	77,67
	02/07/03	256,53b	100	277,56b	100	55,06a	21,33
	30/07/03	1606,11ns	97,45	1597,72ns	99,82	1569,09ns	91,60
<i>F. roseum</i>	13/01/03	26,27ab	0,27	0,00a	-	536,23c	6,92
	26/02/03	34,08a	2,12	345,58c	9,53	86,39a	9,66
	09/04/03	161,91c	8,73	312,41d	8,77	102,60bc	9,18
	21/05/03	136,25a	5,89	108,84a	13,34	74,16a	13,75
	02/07/03	0,00a	-	0,00a	-	101,55b	39,34
	30/07/03	21,00b	1,27	1,41a	0,09	71,93c	4,20
Total	13/01/03	9823,97c	100	6776,02bc	100	7748,19bc	100
	26/02/03	1609,88b	100	3624,56c	100	894,13ab	100
	09/04/03	1854,57c	100	3564,33d	100	1117,43b	100
	21/05/03	2313,41ab	100	815,92a	100	539,23a	100
	02/07/03	256,53a	100	277,56a	100	258,17a	100
	30/07/03	1648,13ns	100	1600,54ns	100	1712,96ns	100
Género/ Especie	Fecha Muestreo	Metam Na	%	<i>Trichoderma</i>	%	Metam Na frío	%
<i>F. oxysporum</i>	13/01/03	121,02a	4,80	3646,94c	49,04	708,65ab	12,49
	26/02/03	4,28a	0,36	29,27ab	3,38	31,64ab	1,83
	09/04/03	239,34b	5,59	12,10a	11,07	16,20a	1,82
	21/05/03	144,64a	9,00	145,72a	13,89	1271,73b	13,94
	02/07/03	118,18b	31,93	81,82b	20,19	96,53b	11,19
	30/07/03	17,07ab	1,40	3,56a	0,18	0,79a	0,04
<i>F. solani</i>	13/01/03	2399,90a	95,20	3646,94ab	49,04	4746,41bc	83,65
	26/02/03	1109,24ab	93,49	821,24ab	94,75	1472,53ab	85,06
	09/04/03	3558,89d	83,06	97,27a	88,93	834,09b	93,67
	21/05/03	1317,43ab	82,00	757,38a	72,21	6579,98b	72,12
	02/07/03	133,76ab	36,14	241,59b	59,62	669,30c	77,61
	30/07/03	1184,96ns	97,20	2017,89ns	99,65	1771,83ns	99,91

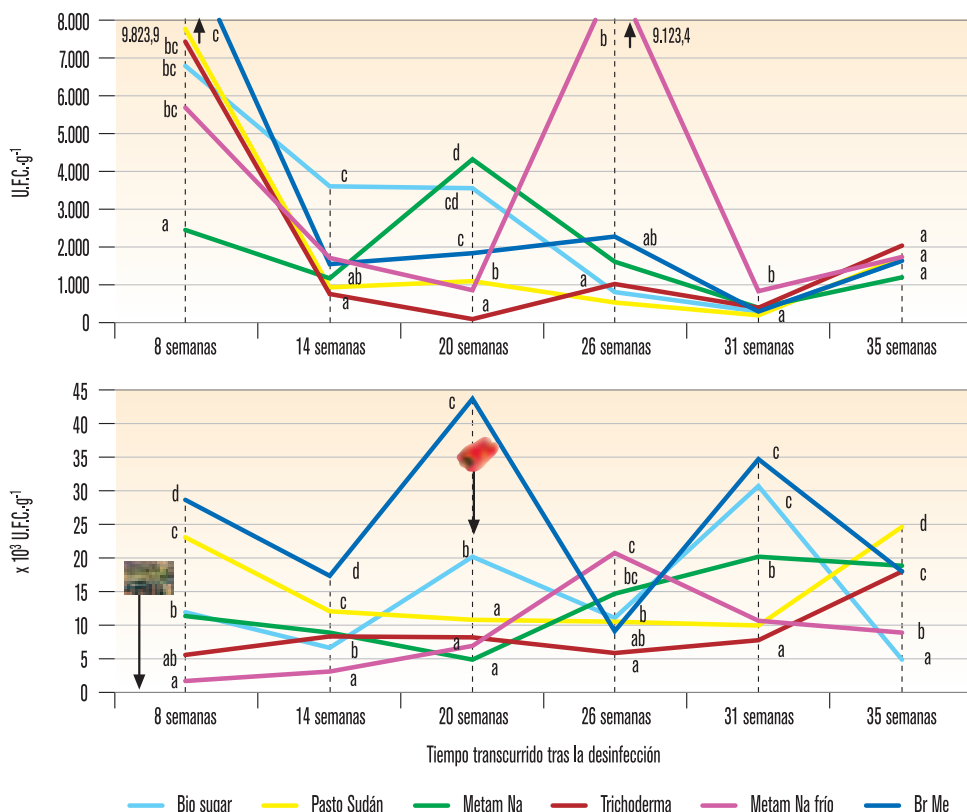
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Tabla 4.Q'2. Variación de la densidad de las distintas especies de *Fusarium* spp. aisladas en el suelo del invernadero Q' y porcentaje de cada una respecto del total a lo largo de la campaña 2002/2003, expresada en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco* (*continuación*)

Género/Especie	Fecha Muestreo	Metam Na	%	<i>Trichoderma</i>	%	Metam Na frío	%
<i>F. roseum</i>	13/01/03	0,00a	-	143,08bc	1,92	218,97c	3,86
	26/02/03	72,92ab	6,15	16,25a	1,87	227,08bc	13,12
	09/04/03	486,67d	11,36	0,00a	-	40,15ab	4,51
	21/05/03	144,64a	9,00	145,72a	13,89	1271,73b	13,94
	02/07/03	118,18b	31,93	81,82b	20,19	96,53b	11,19
	30/07/03	17,07ab	1,40	3,56a	0,18	0,79a	0,04
	Total	13/01/03	2520,93a	100	7436,97bc	100	5674,04b
	26/02/03	1186,45ab	100	866,76a	100	1731,26b	100
	09/04/03	4284,91d	100	109,38a	100	890,45b	100
	21/05/03	1606,71ab	100	1048,83a	100	9123,46b	100
	02/07/03	370,12a	100	405,24a	100	862,38b	100
	30/07/03	1219,12ns	100	2025,01ns	100	1773,42ns	100

* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos al final de cada campaña indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+0,5)}$. BM: Bromuro de metilo.

Gráficos Q'1. y Q'2. Variación del total de especies de *Fusarium* spp. aisladas en el invernadero Q' a lo largo de la campaña 2002/2003, expresado en U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco y del total de microbiota fúngica, expresado en 10³.U.F.C.-g⁻¹ de suelo seco



4.5. ENSAYO DE SÍNTESIS Y CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos, podemos resaltar los siguientes aspectos:

- No se ha detectado ninguna tendencia general en cuanto a la influencia o no de la humedad sobre las poblaciones fúngicas aisladas que se repita en los tres invernaderos evaluados. En todo caso, se aprecian tendencias similares entre todos los tratamientos dentro de un mismo invernadero y campaña de estudio.
- Lo que es prácticamente común en todos los invernaderos muestreados es la elevada densidad de microbiota fúngica total al iniciar los muestreos y las bajas densidades de población fusárica. Esta última pronto comienza a elevarse, como ocurre en el segundo muestreo de suelo en casi todos ellos.
- En la mayor parte de los tratamientos el efecto que ejerce el cultivo sobre la variación de la microbiota fúngica se traduce en que las mayores densidades se dan entre las semanas 20 y 30 después de efectuar las desinfecciones, tanto para la microbiota total como para la fusárica.
- En los análisis de microbiota total *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Penicillium*, fueron los géneros más frecuentemente aislados, predominando *Aspergillus*. En los de microbiota fusárica las especies más frecuentes fueron *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *F. roseum*, destacando *F. solani* en todos los tratamientos e invernaderos.

Sobre las alternativas químicas:

- No se puede realizar una generalización en cuanto a la tendencia observada en la mayoría de invernaderos estudiados que sea independiente del tratamiento efectuado. En este sentido, el bromuro de metilo fue capaz de controlar mejor que otros tratamientos las poblaciones fúngicas totales, aunque los resultados, especialmente a las pocas semanas de la desinfección pongan de manifiesto que la acción biocida es poco persistente. Sin embargo, las poblaciones fusáricas se multiplicaron en mayor medida hacia el final del cultivo.
- La combinación de 1,3 dicloropropeno+cloropicrina fue, en muchos casos, igual o más eficaz que el bromuro de metilo a la hora de controlar las densidades fúngicas medidas en el transcurso del cultivo, tanto para la microbiota fúngica total como para la fusárica en el único invernadero experimental evaluado (H) y en los dos comerciales en que fue aplicada (B y P).

- La cloropicrina permitió, en mayor medida que otros productos, la colonización del suelo por la microbiota fúngica total, no ocurriendo igual con la fusárica. Paradójicamente, las mayores dosis empleadas ($50 \text{ g}\cdot\text{m}^2$) controlaron peor a los *Fusaria*.
- El óxido de propileno, fue el tratamiento en el que la población fusárica alcanzó mayores densidades, particularmente a las mayores dosis ensayadas ($800 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$). Sin embargo, su efectividad respecto a los demás hongos, no es nada desdeñable, consiguiendo un control bastante aceptable.

Sobre las alternativas no químicas:

- En las parcelas con biofumigación sola se encontraron poblaciones fusáricas más elevadas que en los otros tratamientos ensayados.
- La biosolarización se mostró más eficaz que la biofumigación sola, al controlar la población fusárica y la total. Además, el efecto se mostró estable conforme aumentaron los años de reiteración del tratamiento.
- La aplicación de *Trichoderma*, tanto al sustrato del cepellón como al suelo, no tuvo ningún efecto ni sobre la microbiota total ni sobre la fusárica. Cuando fueron aplicadas en el semillero tuvieron una carga fúngica mayor que al hacerlo en el trasplante.

Sobre el desarrollo de las plantas:

- Los menores crecimientos vegetativos de las plantas se asociaron a las mayores densidades de *Aspergillus spp.* y de *F. solani*, especialmente, en aquellas parcelas que sirvieron de testigo o fueron biofumigadas. En las biosolarizadas no se vio afectado el desarrollo.
- En el caso de los ensayos con productos químicos, sólo puede relacionarse el descenso del desarrollo vegetativo en el invernadero P en las parcelas desinfectadas con DMDS (dimetil disulfito) y con óxido de propileno a la menor dosis ($300 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$). En el invernadero H, no se observaron efectos sobre el desarrollo de las plantas para ninguno de los productos ensayados.

Sobre las producciones:

- Los menores producciones se relacionan con densidades de inóculo elevadas, sobre todo, de *F. solani*, en los tratamientos de biofumigación o los tratados con agentes de biocontrol como *Trichoderma*, y con los produc-

tos químicos que menor efecto tuvieron sobre los patógenos, como ocurrió con el DMDS.

- Para la combinación de 1,3 dicloropropeno+cloropicrina, no se observó ninguna reducción en la producción alcanzada. Ni con el óxido de propileno a la dosis más alta ensayada.
- En los tratamientos de biosolarización y sus reiteraciones no se relaciona ninguna acumulación de poblaciones fúngicas con descensos de producción.

Habiéndose encontrado una relación entre las densidades de determinados hongos y la reducción del desarrollo y la producción de las plantas, se hace necesario estudiar las posibles implicaciones parasitarias de los hongos más frecuentemente aislados.

**IMPLICACIONES PARASITARIAS
DE *F. SOLANI*, *ASPERGILLUS* Y
PENICILLIUM AISLADOS DE LOS
SUELOS DE LOS INVERNADEROS
DE PIMIENTO**

5. IMPLICACIONES PARASITARIAS DE *F. SOLANI*, *ASPERGILLUS* Y *PENICILLIUM* AISLADOS DE LOS SUELOS DE LOS INVERNADEROS DE PIMIENTO

5.1. INTRODUCCIÓN

Es conocido el papel de muchas de las micotoxinas de los hongos que han sido aislados en los análisis de suelo efectuados (IDRIS *et al.*, 1998), por lo que se planteó la inoculación de los mismos (en principio no patógenos) mediante su extracto crudo. DIÁNEZ (2005) refiere cómo al inocular bacterias, levaduras, actinomicetos y hongos (entre ellos, *Fusarium solani*) para ensayar su poder antagonista frente a hongos fitopatógenos, encuentra que producen toxicidades que llegan a matar a las plántulas cuando las dosis de inóculo son muy elevadas.

Al ser *Fusarium solani*, la especie mayoritariamente aislada en los análisis efectuados para determinar la población fusárica, parecía conveniente conocer el efecto de los extractos de diversas cepas. A este respecto, las preguntas que sugerían estos resultados eran de diversa índole: ¿sería *F. solani* patógena en determinados momentos del desarrollo vegetativo de la planta?, ¿sería la responsable del “cansancio del suelo” observado en el campo al final del cultivo?

5.2. OBJETIVOS

El objetivo que se marcó para este apartado, fue contestar a las preguntas planteadas en el apartado anterior, y entre otros, era el de conocer el papel que juegan en la planta los hongos habitualmente aislados en los análisis de suelo, si inoculados en determinados momentos del estado fenológico de la planta eran capaces de interferir en su desarrollo o no.

5.3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se evaluó la incidencia de algunos hongos aislados mediante un inóculo constituido por propágulos del hongo y los metabolitos producidos por éste en el medio donde se multiplicó. El extracto se obtuvo tras el cultivo en medio líquido

del hongo en cuestión, en este caso, se emplearon 500 ml de medio patata-dextrosa en un matraz Erlenmeyer que se mantuvo en agitación continua a 450 r.p.m. durante 12 días (Figura 35). Tal y como describen MONTROYA *et al.* (2001), la incubación se hizo en una habitación con luz natural y temperatura entorno a 25°C. La filtración del extracto se hizo con papel Whatman nº1 (Figura 34), dejando paso del orden de $5-15 \cdot 10^3$ propágulos·ml⁻¹.



Figuras 34 y 35. Filtrados de los extractos de diferentes cepas (izquierda) y agitación de los mismos (derecha).

El hongo había crecido previamente en PDA (Patata Dextrosa Agar) a 25° C durante 10 días en cámara de cultivo. De cada cepa escogida, se repicaron dos placas, de las cuales se extrajo un disco de cada una de 20 mm de diámetro que fue lo que se puso a agitar en los Erlenmeyer de 500 ml.

Las inoculaciones se realizaron partiendo de semillas de pimiento de la variedad Sonar que previamente fueron desinfectadas con lejía comercial sin diluir (40 g de cloro activo por litro) y aclarados sucesivos con agua para eliminar restos de cloro. Se realizaron en una cámara de ambiente controlado, a 25° C, con un fotoperiodo de 2500-3000 lux durante 14 horas/día y 60-80% de humedad relativa. La forma de trabajar fue similar a la realizada por Tello *et al.* (1985) y DE CARA (2007).

Las macetas, consistieron en envases de 500 ml de plástico rectangulares, de tipo alimentario, de dimensiones 12x8x6 cm, con sustrato de vermiculita (previamente esterilizada a 121° C durante 1 hora). Se regaron cada 48 horas con unos 75 ml de agua cada terrina. Tal y como hicieron en su día FERNÁNDEZ-CORRAL *et al.* (2002), los contenedores que alojaban la vermiculita, fueron perforados a 1 cm de la base con el fin de evitar la contaminación por el drenaje del agua de riego.

Las inoculaciones se efectuaron en tres momentos diferentes: 1) en estado de semilla, 2) cuando la plántula tenía 2 cotiledones y 3) cuando la planta tenía dos hojas verdaderas. Para los casos 2) y 3), las semillas fueron pregerminadas

en placas de Petri con papel de filtro de 9 cm de diámetro esterilizado en autoclave a 121°C, 25 minutos. Al cabo de 4 días, se trasplantaron a la vermiculita. En todos los casos, se sembraron seis semillas por maceta. Para cada aislado se ensayaron tres dosis de inóculo: un testigo, 5 ml y 10 ml, y a su vez, hubo dos macetas (repeticiones) por dosis ensayada, lo que hizo un total de seis macetas por cepa (de las que dos fueron control).

Fusarium solani

En un primer lugar, se escogieron quince cepas de *F. solani* procedentes de diversas muestras de suelo de los ensayos evaluados en el campo, a saber: FS-A, FS-7 y FS-9 tenían su origen en parcelas testigo, FS-B y FS-C en parcelas bromuradas, FS-1 y FS-2 de parcelas biosolarizadas por primera vez, FS-3 y FS-4 de parcelas biosolarizadas por segundo año, FS-5 y FS-6 de parcelas biosolarizadas de tercer año, FS-8 y FS-10 de parcelas a las que se les había añadido un producto llamado Biomor (mezcla de estimulantes de origen biológico, principalmente, bacterias) y por último, FS-11 y FS-12 de parcelas que se desinfectaron con metam sodio después de solarizarlas.

En el primero de los casos, cuando la inoculación se realizaba en estado de semilla, éstas fueron sembradas e inmediatamente después, inoculadas, para darse por acabado el ensayo unos cuarenta y cinco días después, cuando ya contaban con 6 hojas verdaderas en su mayoría.

La segunda variante del ensayo, fue inocular el extracto cuando las plantitas contaban con dos cotiledones y la tercera fue inocularlas cuando tenían dos hojas verdaderas. En ambos casos, el ensayo se daba por finalizado cuando contaban con seis hojas verdaderas como ya se ha comentado, pues era cuando ya de por sí, el sustrato estaba agotado y físicamente no podían desarrollarse más.

Entonces, se procedía al lavado bajo el agua de todas las plantitas que hubiesen sobrevivido y se colocaban sobre papel de filtro para que empapara el agua sobrante.

A continuación, se medía la altura desde la base hasta el primer cruce de hojas, a lo que corresponde la altura expresada en los resultados. A su vez, se disponían las plantitas de forma individualizada dentro de unos papeles doblados a modo de sobre, y se introducían en estufa a 105° C durante 24 horas. De esta forma, se conocería el peso fresco y seco de cada planta, para poder averiguar así el peso medio seco.

El ensayo, en sus tres momentos diferentes de inoculación, se repitió dos veces en el tiempo.

Otros hongos

Se trabajó también con otros géneros de hongos, en concreto, con la cepa P3 de *Penicillium*, procedente de suelos bromurados, las cepas A-7 de suelos testigo, A-11 de suelos biosolarizados por tercer año, A-18 (todas ellas de *Aspergillus flavus*), aislada de suelos biosolarizados por quinto año, An de *Aspergillus niger*, de suelos que habían sido bromurados y la cepa FS-193 de *Fusarium solani*, que provenía de suelos desinfectados con 1,3 dicloropropeno y cloropicrina.

Cuando se comparó el efecto de los extractos de distintos géneros sobre la germinación de las semillas, se pusieron 20 semillas/placa sobre discos de papel de filtro en placas de Petri, y fueron regadas con 5 ml, de la dilución correspondiente.

Cuando se comparó el efecto de diversas diluciones (1:1, 1:2, 1:4, 1:8 y 1:10) del extracto de *Aspergillus*, se pusieron 10 semillas/placa y se regó cada placa con 4 ml del inóculo líquido (hongo + metabolitos de su crecimiento).

Al trabajar con las diluciones 1:1, 1:2, 1:3 y 1:9, se sembraron 5 semillas por placa y se regó con 2 ml de cada dilución.

5.3.1. Análisis estadísticos de los datos

En cuanto a los análisis realizados para conocer la patogenicidad de las cepas, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) factorial.

Los análisis se plantearon de la siguiente forma:

Cuando se realizaron los ensayos empleando quince cepas distintas de *Fusarium solani*, los dos factores estudiados para cada cepa fueron la dosis y la repetición y la variable dependiente, el parámetro a estudiar: la germinación, la altura, el número de hojas verdaderas o el número de plantas muertas. La germinación sólo se evaluó cuando la inoculación se realizó en estado de semillas.

Cuando el ensayo se limitó a cinco cepas de *F. solani* y un testigo, los dos factores estudiados fueron la cepa y la repetición, y la variable dependiente, el parámetro a estudiar: la germinación, la altura, el número de hojas verdaderas o el número de plantas muertas.

Al trabajar con otros hongos, sólo se tuvo en cuenta como variable dependiente, el número de semillas germinadas con los factores cepa y repetición como variables independientes.

Para normalizar los datos de todos los análisis, se empleó la transformación $\sqrt{(x+1)}$, por ser la que mayor información proporcionaba para la interpretación de los resultados.

El método empleado para la comparación de las medias fue el procedimiento de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) al 95%.

5.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.4.1. Evaluación de patogeneidad de 15 aislados de *F. solani*

Fusarium solani: inoculación en estado de semillas

Los resultados obtenidos en relación a la inoculación con el extracto de distintas cepas de *Fusarium solani* de diversa procedencia, pusieron de manifiesto la arbitrariedad en la expresión de la patogeneidad de las mismas cuando se inoculan en estado de semillas.

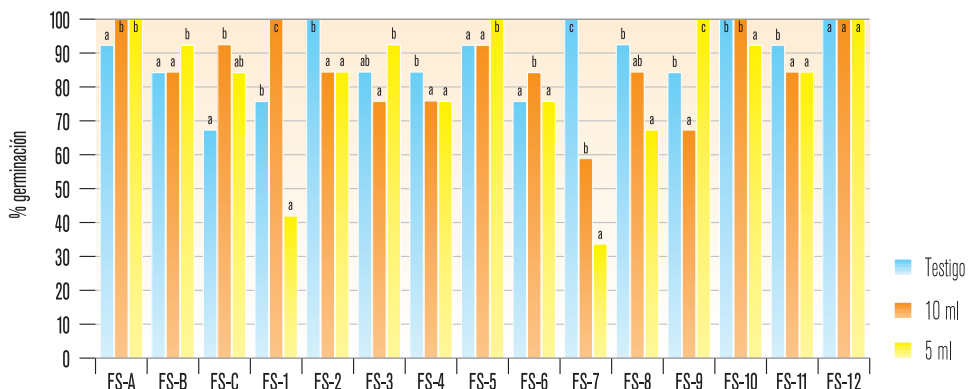
La variación obtenida a la hora de reproducir los mismos ensayos al repetir las inoculaciones pone de manifiesto la dificultad para establecer una pauta generalizada en cuanto al comportamiento patogénico o no de los hongos aislados para los parámetros estudiados: porcentaje de germinación, peso seco de la planta, número de plantas muertas al finalizar el ensayo y altura de las mismas en dicho momento.

En algunos casos, se demuestra cómo la dosis de 5 ml fue incluso más agresiva que la de 10 ml.

Similares observaciones realizaron IDRIS *et al.* (1998), tras percatarse de que *F. solani* provocaba la muerte natural y esporádica de *Striga hermonthica*, la mala hierba que más estragos causa en el cultivo del sorgo en Sudán. Al regar sobre semillas de *Striga* el hongo en forma de suspensiones o de filtrados del mismo con una densidad de inóculo de $3 \cdot 10^6$ esporas·ml⁻¹, al 100%, no obtuvo ninguna inhibición de la germinación; ni al diluirlo 10 o 100 veces. Sin embargo, cuando las semillas eran sumergidas en agua o en alcohol y posteriormente regadas con los filtrados del hongo, el efecto inhibitor fue total, independientemente del empleo de estimulantes de la germinación. La germinación era exitosa cuando se retrasaba la exposición a los filtrados del hongo, tras aplicarle estimulantes como OR24 o etefón. Cuanto más tiempo transcurría a la exposición del hongo, mayor porcentaje de germinación de las semillas se obtenía. El filtrado por tanto, inhibía o la acción del etileno o la biosíntesis del etileno.

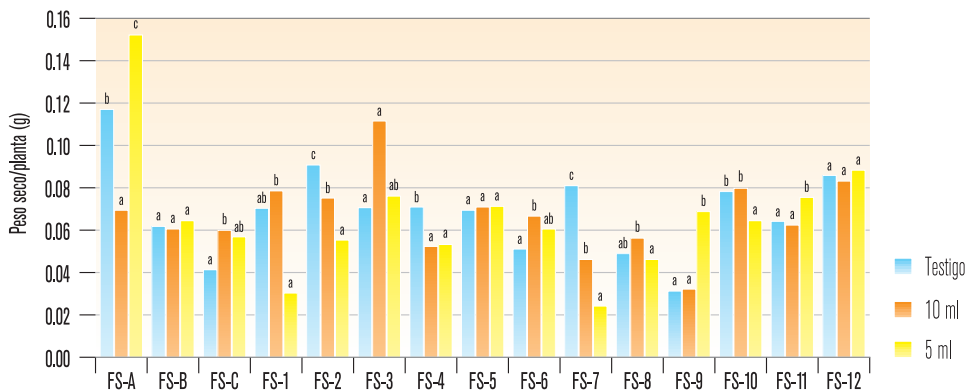
El Gráfico 5.1. es un ejemplo de lo comentado en el que sólo para el caso de las cepas FS-2, FS-4, FS-7, FS-8 o FS-11, se manifiesta un efecto del poder inhibitor del hongo en valores que oscilan del 10 al 30%, mientras que en otros casos como FS-A o FS-C, para las dos dosis ensayadas o para FS-B, FS-1, FS-5, FS-6, o FS-9 para una de las dos dosis el hongo aumenta incluso el porcentaje de germinación.

Gráfico 5.1. Diferencias en el porcentaje medio de germinación de semillas de pimiento por diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon en estado de semillas a distintas dosis y un testigo sin hongo*. Ensayo 1



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

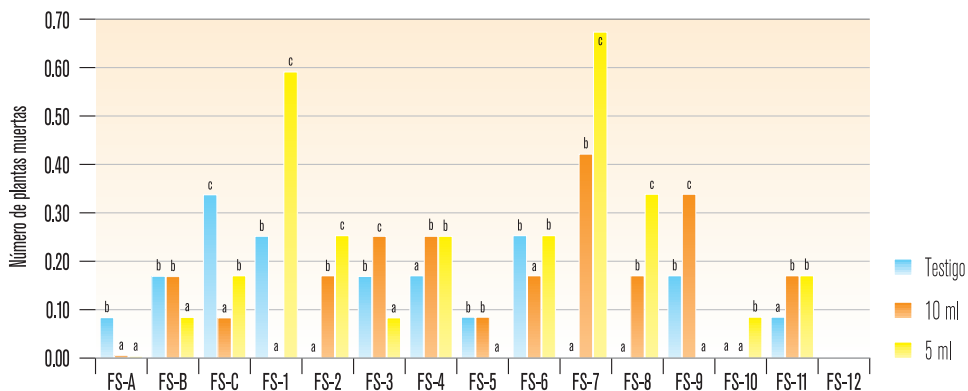
Gráfico 5.2. Diferencias en el peso seco medio de las plantas de pimiento al final del ensayo por diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon en estado de semillas a distintas dosis y un testigo sin hongo*. Ensayo 1



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

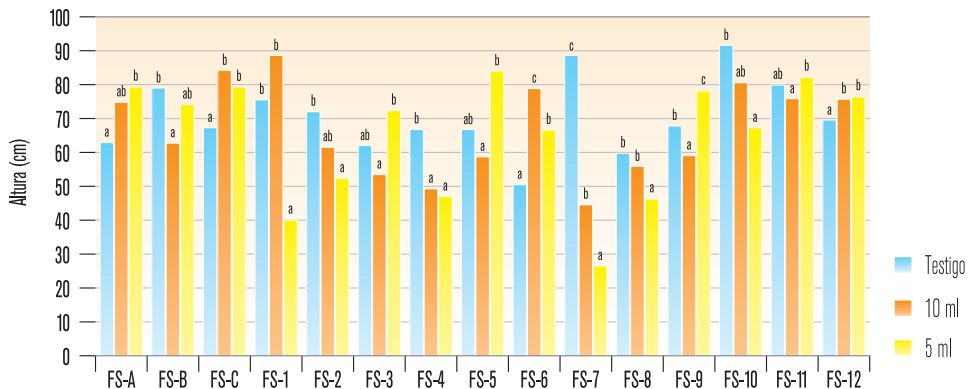
En la misma línea de lo comentado para los aislados FS-2, FS-4, FS-7 y FS-11, en relación al porcentaje de germinación, que fueron los que más la inhibieron, también causaron una disminución del peso seco de las plantas al final del ensayo (Gráfica 5.2.), más plantas muertas (Gráfico 5.3.) y una reducción del desarrollo vegetativo (Gráfico 5.4.).

Gráfico 5.3. Diferencias en el número medio de plantas muertas por diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de semillas*. Ensayo 1



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.4. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas al final del ensayo según las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de semillas*. Ensayo 1



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Y de la misma forma para las cepas FS-C, FS-1, FS-3, FS-5, FS-6 y FS-9 que para una o las dos dosis ensayadas, tuvieron frente al testigo, el efecto contrario, en el que incluso se vigorizaba el peso seco alcanzado al final del ensayo, se reducía el número de plantas muertas o se producía un aumento de la altura.

También los ensayos llevados a cabo por TELLO *et al.* 1985) al inocular *F. solani* (aislado de las raíces de plantas que no siempre manifestaron síntomas

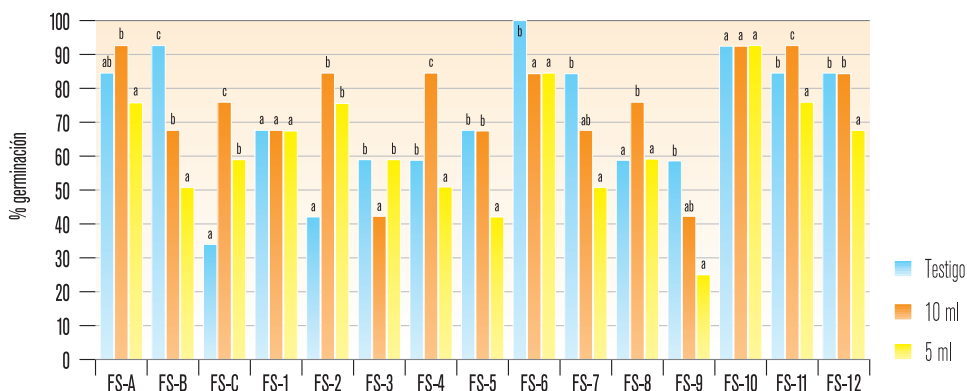
de marchitez) sobre semillas de judía tuvieron resultados, a veces, contradictorios. Cuando pesaron las plantas al mes de haber sido inoculadas sobre semillas, (tras dejarlas 6 horas en una estufa de aire forzado a 25° C), obtuvieron en algún caso plantas de peso igual o superior al testigo, lo que les hizo deducir que las plantas se veían incluso vigorizadas con la adición del inóculo añadido al sustrato (lo que sucedió en el caso estudiado-a la vista de los resultados de la Gráfico 5.2.- con alguna de las dos o para ambas dosis ensayadas).

Autores como FERNÁNDEZ-CORRAL *et al.* (2002) manifiestan la heterogeneidad de los resultados que obtienen. En su caso, ensayaron la inoculación del extracto de *Fusarium accuminatum* (hongo asociado a los tejidos de la semilla de judía) sobre las semillas de judía. Dependiendo de la variedad sobre la que se realizase la inoculación, el hongo era capaz de reducir el porcentaje de germinación de un modo considerable o no.

Tal y como se señalaba anteriormente al repetir el ensayo, no se obtuvieron los mismos resultados para con las mismas cepas ensayadas; lo que en un caso resultó agresiva a una dosis determinada no lo era al realizarlo de nuevo y/o viceversa.

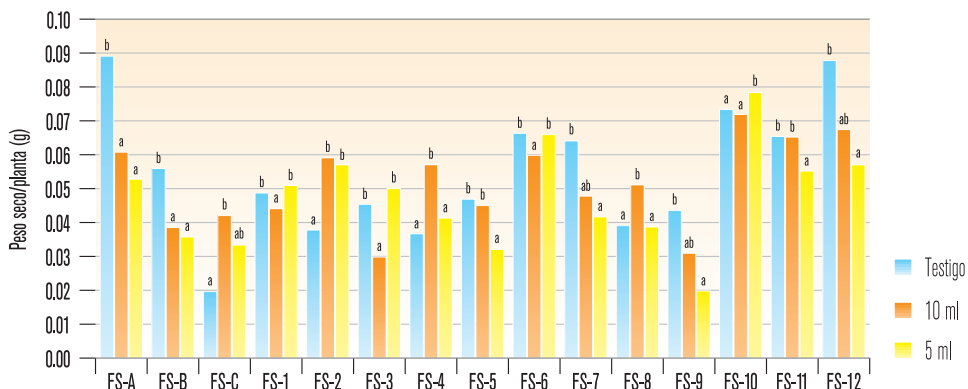
La excepción a lo comentado, la protagonizaron el aislado FS-7 en relación al efecto patogénico sobre las semillas y el aislado FS-C, en cuanto al posible efecto vigorizante ejercido por la cepa.

Gráfico 5.5. Diferencias en el porcentaje medio de germinación de semillas por diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de semillas*. Ensayo 2



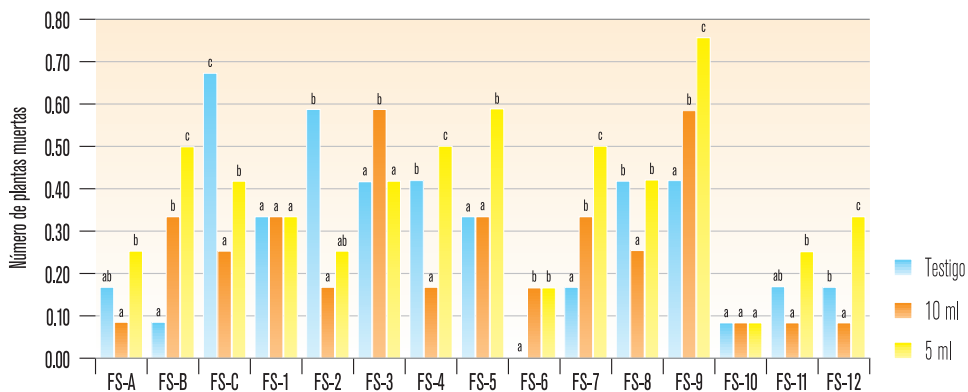
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.6. Diferencias en el peso seco medio de las plantas de pimiento al final del ensayo por diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de semillas*. Ensayo 2



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.7. Diferencias en el número medio de plantas muertas por diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de semillas*. Ensayo 2

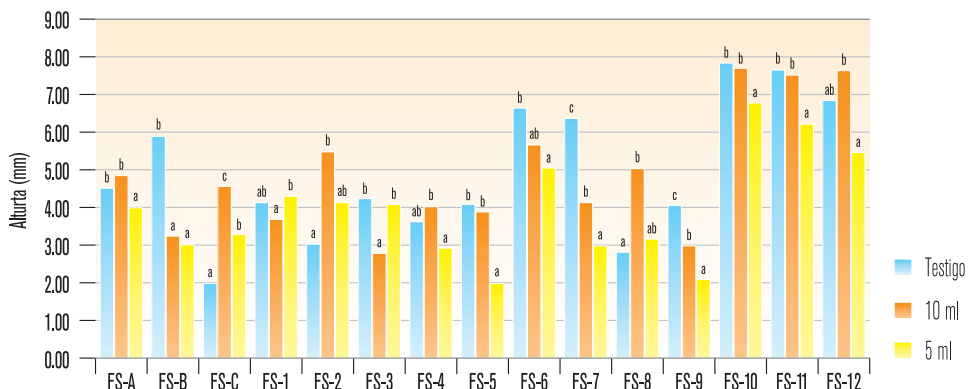


* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

***Fusarium solani*: inoculación en plantas (dos cotiledones)**

Cuando la planta estuvo más desarrollada al ser inoculada, los efectos fueron más evidentes en cuanto a la patogeneicidad de los aislados. Fue el caso de las cepas FS-A, FS-B, FS-C, FS-2, FS-4, FS-7 y FS-9 para una o las dos dosis ensayadas en relación al peso seco (Gráfico 5.9.), número de plantas muertas (Gráfico 5.10.) y altura alcanzada por las mismas (Gráfico 5.11.). Del

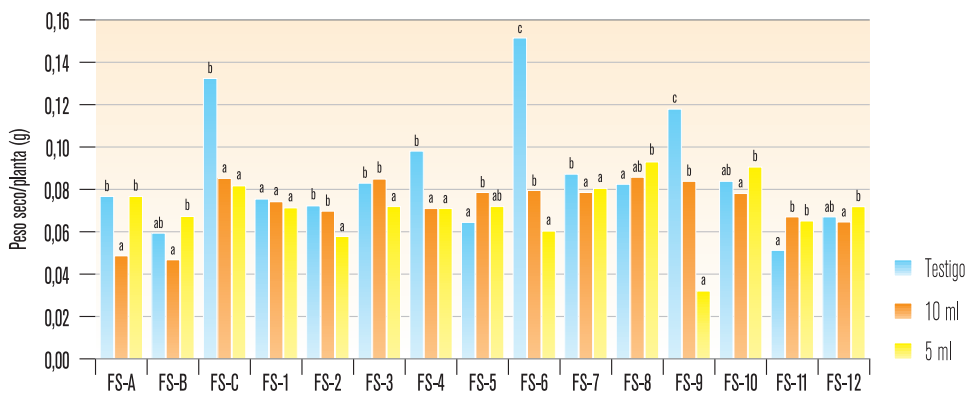
Gráfico 5.8. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas al final del ensayo según las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de semillas*. Ensayo 2



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

mismo modo, se dio el caso contrario al esperado, con un efecto vigorizante por parte del aislado FS-5.

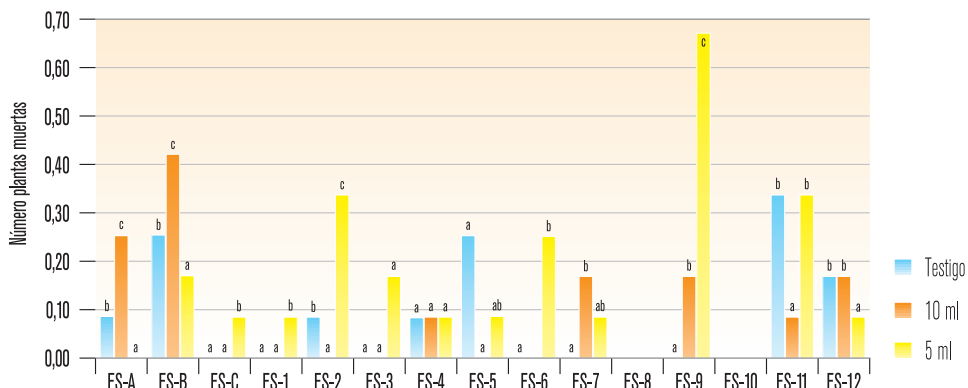
Gráfico 5.9. Diferencias en el peso seco medio de las plantas de pimiento al final del ensayo por diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*. Ensayo 1



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

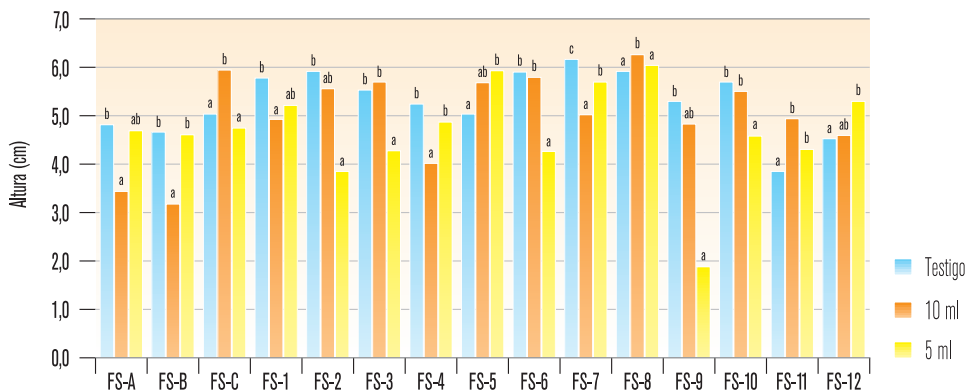
En el caso de inocular las plantas en estado de dos cotiledones, sí hubo más coincidencias en cuanto al comportamiento patogénico de los aislados en las dos repeticiones, como fue el caso del aislado FS-B, FS-2, FS-4, FS-7 y FS-9.

Gráfico 5.10. Diferencias en el número medio de plantas muertas por las diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*. Ensayo 1



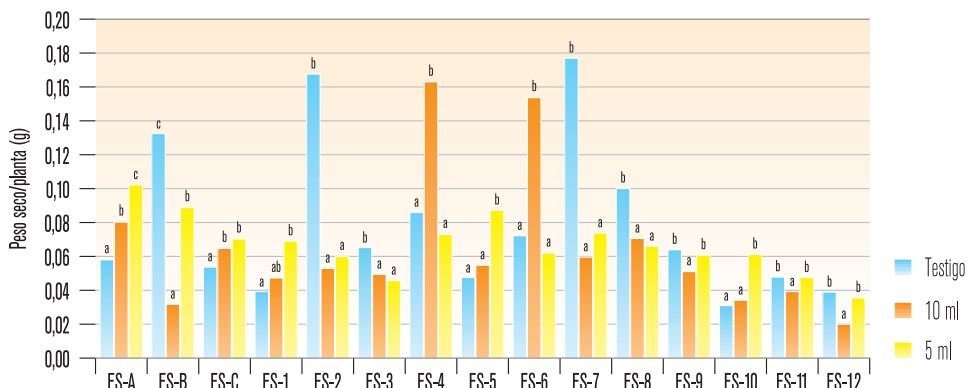
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.11. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas al final del ensayo según las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*. Ensayo 1



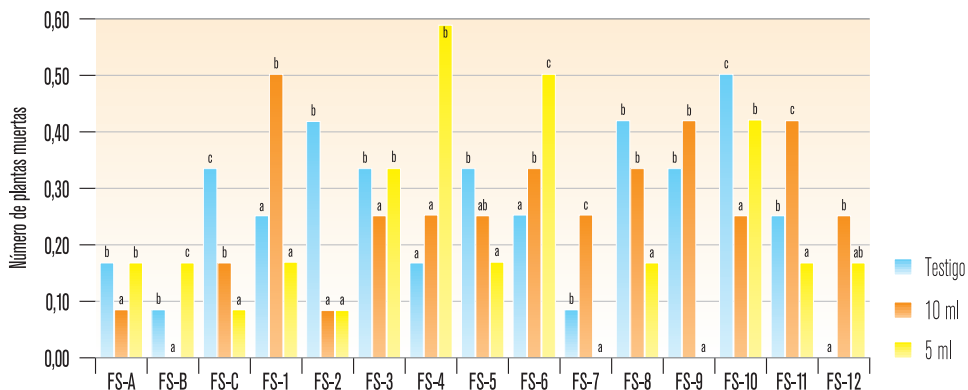
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.12. Diferencias en el peso seco medio de las plantas de pimiento al final del ensayo por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*. Ensayo 2



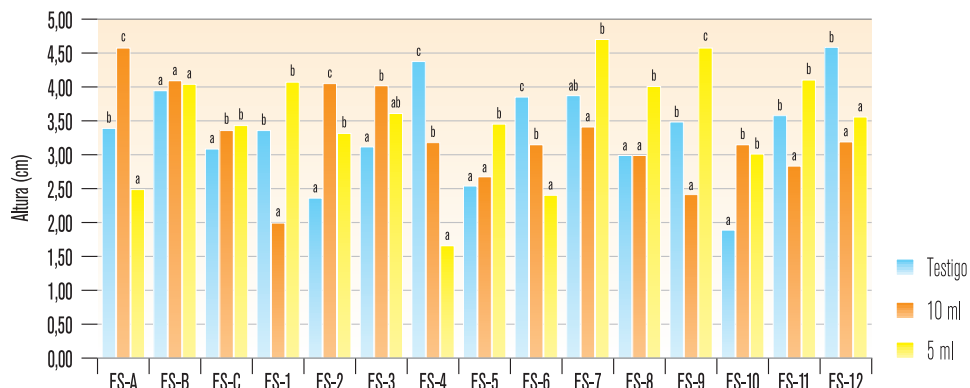
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.13. Diferencias en el número medio de plantas muertas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*. Ensayo 2



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.14. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas al final del ensayo por las diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*. Ensayo 2

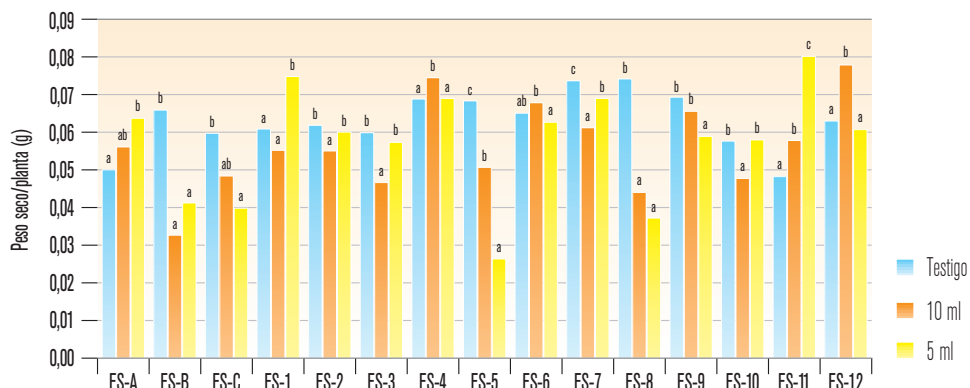


* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

***Fusarium solani*: inoculación en plantas (dos hojas verdaderas)**

El estudio del efecto observado, fue sin duda más evidente cuando la inoculación se realizó al contar la planta con más edad. Así se deduce de los Gráficos 5.15., 5.16. y 5.17. al advertir con las cepas FS-B, FS-3, FS-7, FS9 y FS-10 el efecto inhibitorio mostrado en el que se relaciona un menor peso seco de las plantas con mayor número de plantas muertas con una menor altura.

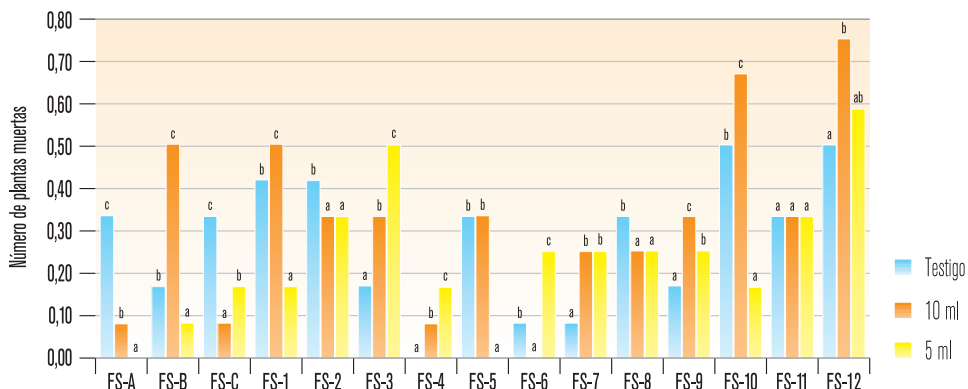
Gráfico 5.15. Diferencias en el peso seco medio de las plantas de pimiento al final del ensayo por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*. Ensayo 1



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

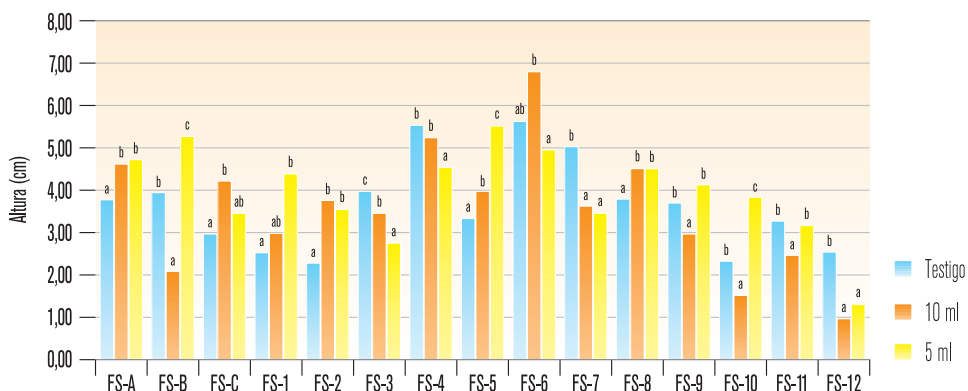
De la misma forma, el aislado FS-A mantuvo se efecto contrario al esperado al fomentar el crecimiento de las plantas, repitiéndose su efecto al realizar de nuevo el ensayo.

Gráfico 5.16. Diferencias en el número medio de plantas muertas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*. Ensayo 1



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

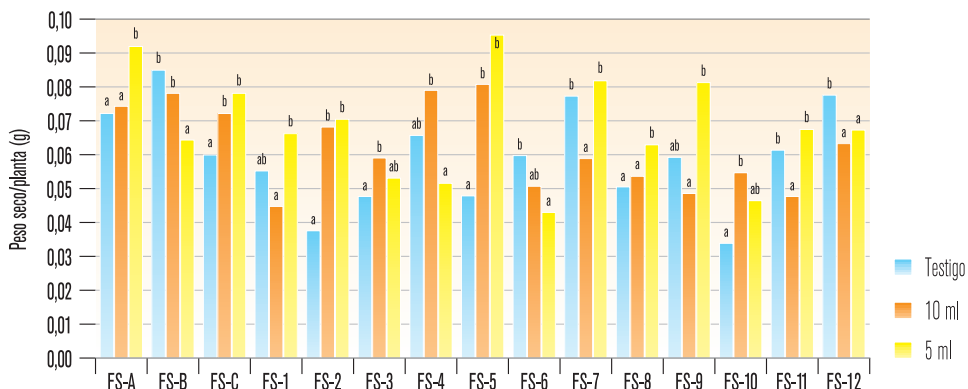
Gráfico 5.17. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas al final del ensayo según las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*. Ensayo 1



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

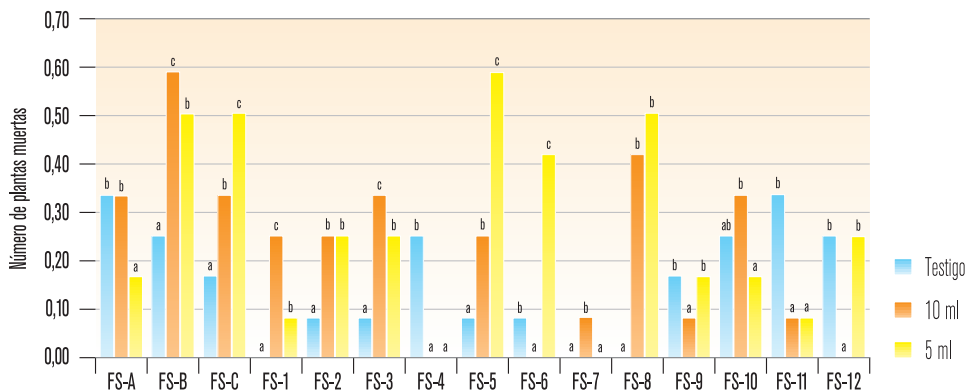
Los efectos mencionados para las cepas que provocaron fenómenos de fatiga, se reiteraron en el segundo ensayo para el caso de los aislados FS-B, FS-3, FS-7 y FS-9.

Gráfico 5.18. Diferencias en el peso seco medio de las plantas de pimiento al final del ensayo por diferentes cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*. Ensayo 2



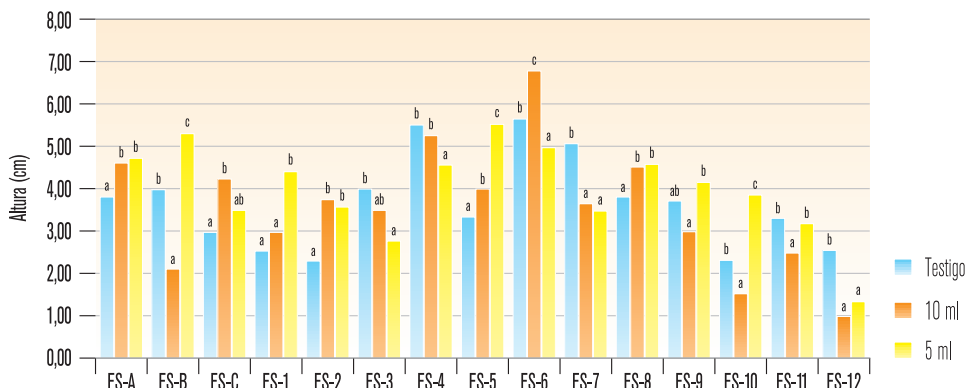
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.19. Diferencias en el número medio de plantas muertas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*. Ensayo 2



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.20. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas al final del ensayo por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas que se inocularon a distintas dosis y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*. Ensayo 2



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre dosis para cada cepa indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

5.4.2. Evaluación de 5 aislados de *F. solani*

A la vista de estos resultados preliminares, se decidió acotar el siguiente ensayo, en el que se escogieron cinco cepas de *Fusarium solani*, en este caso, las codificadas como FS-54, FS-55, FS-56, FS-57 y FS-60, procedentes de las siguientes zonas:

Las cepas FS-54 y FS-55 procedían del invernadero experimental E, correspondientes al tratamiento de biosolarización de 1^{er} año. Las cepas FS-56 y FS-57, del mismo invernadero pero de las parcelas bromuradas y la cepa FS-60 del tratamiento de biosolarización de 4^o año, de la misma ubicación. Todas ellas se aislaron dentro de la campaña 2002/2003.

De nuevo, las inoculaciones se efectuaron en momentos diferentes, en este caso, en cuatro: 1) en estado de semilla, 2) cuando la plántula tenía 2 cotiledones, 3) cuando la plántula tenía dos hojas verdaderas y 4) cuando la planta contaba con cuatro hojas verdaderas. Para los casos 2), 3) y 4), las semillas fueron pregerminadas en placas de Petri como ya se ha comentado con anterioridad. En todos los casos, se sembraron seis semillas por maceta.

Se realizaron tres repeticiones de cada una de las inoculaciones, y además se contó con un testigo. Al ser 18 las semillas analizadas por cepa, fueron 108 ((18x5)+ 18 del testigo) las semillas totales del ensayo. De nuevo, se empleó la variedad de pimiento Sonar.

Una vez filtrado el inóculo, se procedió a contar conidias con la cámara de NEUBAUER. Los resultados que se obtuvieron fueron:

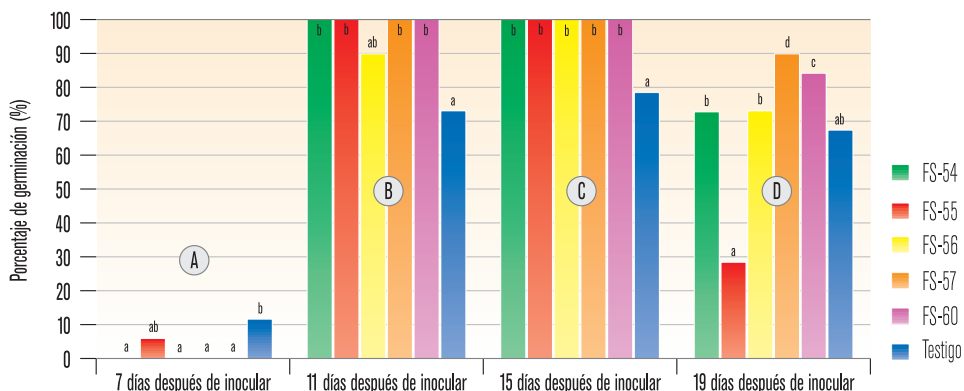
- FS-54: $8 \cdot 10^4$ conidias·ml⁻¹
- FS-55: $12 \cdot 10^4$ conidias·ml⁻¹
- FS-56: $8 \cdot 10^4$ conidias·ml⁻¹
- FS-57: $8 \cdot 10^4$ conidias·ml⁻¹
- FS-60: $4 \cdot 10^4$ conidias·ml⁻¹

La razón de la inoculación fue de 10 ml/semilla.

Las semillas se desinfectaron previamente con lejía comercial (5% de cloro activo) por inmersión, con agitación, y después se enjuagaron con agua, hasta hacer desaparecer el olor a lejía.

***Fusarium solani*: inoculación en estado de semillas**

Gráfico 5.21. Diferencias en el porcentaje medio de germinación de las semillas por las cepas de *Fusarium solani* inoculadas en estado de semilla y un testigo sin hongo*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Varios son los comentarios que sugiere el Gráfico 5.21.:

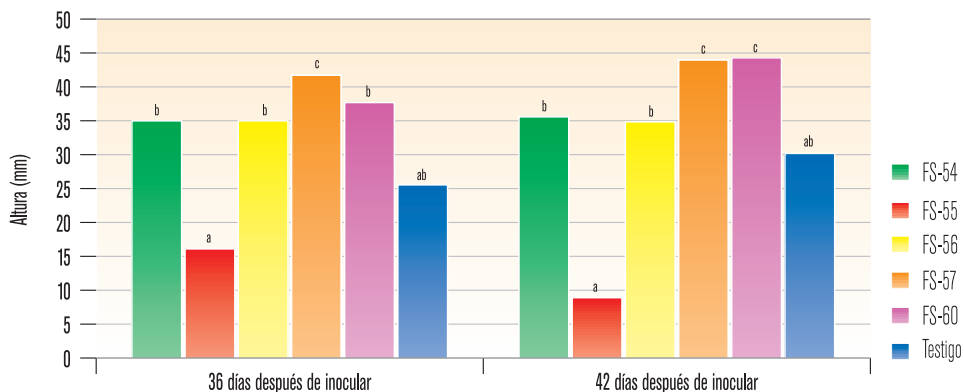
- A) Siete días después de inocular (señalado en el Gráfico como A, el porcentaje de germinación ha sido afectado. De manera que 4 de las 5 cepas parece que han ejercido un cierto retraso en las semillas, mientras que la cepa FS-55, ha manifestado un efecto no tan marcado, puesto que ha germinado comparablemente con el testigo.
- B) Once días después de inocular (parte B), las cinco cepas han provocado una notable subida de la germinación con respecto al testigo. Este hecho

parece indicar que las cepas estimulan la germinación, pero tal apreciación no sería exacta puesto que el filtrado llevaba sustancias nutritivas entre las cuales podrían encontrarse los metabolitos de cada cepa. Lo mismo ocurre 15 días después, donde el testigo se mantiene (parte C del gráfico).

- C) Diecinueve días después de inocular, el panorama se ha modificado sustancialmente. Mientras el testigo mantiene una germinación comparable a la medida en las lecturas anteriores, los tratamientos con los aislados no es que hayan germinado menos (experimentalmente es imposible), es que las plántulas (o semillas germinadas) murieron, poniendo así de manifiesto un poder patógeno y/o tóxico de los aislados inoculados. Este efecto fue especialmente marcado para la cepa FS-55 (parte D del Gráfico 5.21.).

En consecuencia, puede decirse que las cepas de *Fusarium solani* han mostrado, excepto la FS-55, un leve retraso en la germinación, quizás debido a los metabolitos del inóculo. Sin embargo, cuando los efectos tóxicos han desaparecido, se estimula la germinación por los nutrientes del medio de cultivo y posibles excretas no tóxicas del hongo. Al final, 19 días después de la inoculación las plantas comenzaron a morir por un posible efecto de las cepas inoculadas, lo cual fue especialmente marcado para el aislado FS-55. Este efecto fue arrastrado durante todo el experimento.

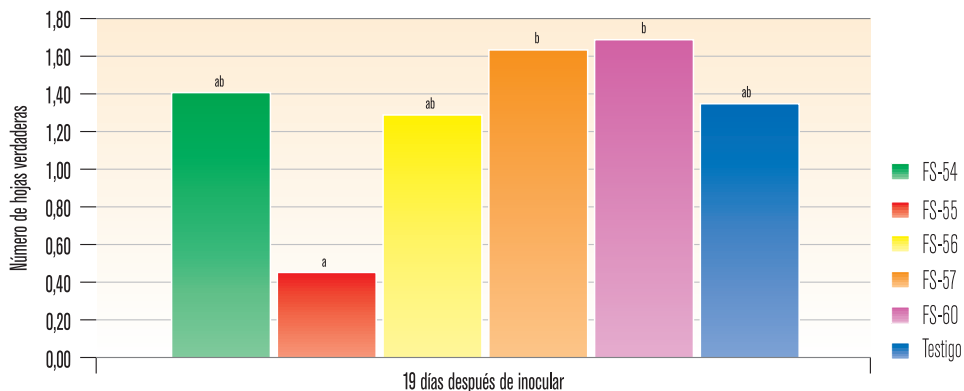
Gráfico 5.22. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas en dos fechas por las cepas de *Fusarium solani* inoculadas en estado de semillas y un testigo sin hongo*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

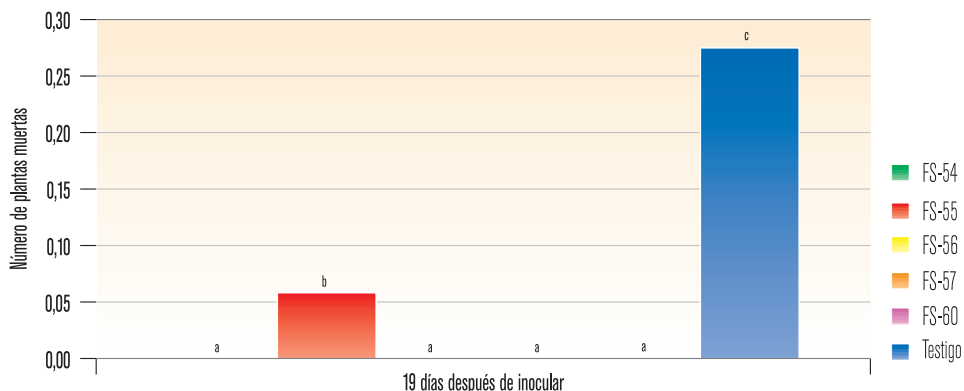
En la misma línea de los resultados mostrados con anterioridad, el número de plantas muertas al dar por concluido el ensayo fue mayor en las plantas que no recibieron ningún inóculo (testigos) que en todos los aislados ensayados, incluido el FS-55 ya comentado (Gráfico 5.24.).

Gráfico 5.23. Diferencias en el número medio de hojas verdaderas para las cepas de *Fusarium solani* inoculadas en estado de semillas y un testigo sin hongo



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.24. Diferencias en el número medio de plantas muertas para las cepas de *Fusarium solani* inoculadas en estado de semillas y un testigo sin hongo*



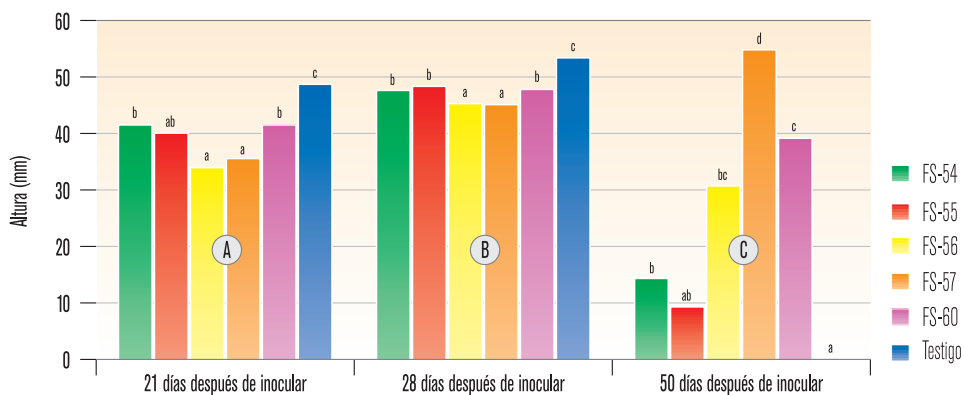
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Los Gráficos 5.22. y 5.23. informan sobre el estado de desarrollo de las plantas que crecieron a partir de las semillas germinadas y no eliminadas por inoculación. En el Gráfico 5.23. se aprecia que la altura de las plantas inoculadas con FS-55 era significativamente menor que el resto, testigo incluido, 36 días después de inocular. Todavía el fenómeno de raquitismo aparece más acusado 42 días después de inocular. La misma tónica se aprecia en el Gráfico 5.23. para FS-55 en lo concerniente al número de hojas desarrolladas.

***Fusarium solani*: inoculación en plantas (2 cotiledones)**

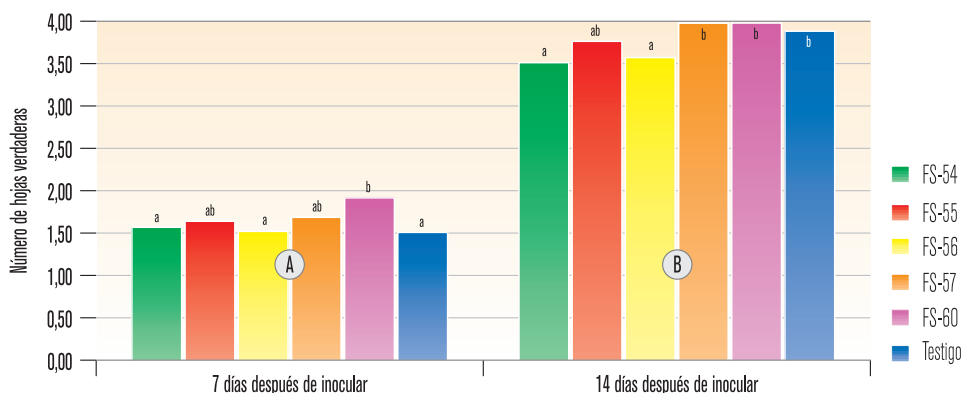
Cuando las plantas fueron inoculadas con mayor desarrollo vegetativo, en estado de dos cotiledones, la altura alcanzada por las plantas testigo fue mayor en dos de las fechas control (21 días después de inocular; parte A del Gráfico 5.25.) y 28 días después de inocular (parte B del mismo gráfico). Sin embargo, al levantar el ensayo no ocurrió lo mismo. Excepto la cepa FS-55, todas las demás tuvieron un crecimiento significativamente superior al testigo, aunque la disminución en el desarrollo también era indicio de una mayor mortandad de las plantas. Como se aprecia, la altura alcanzada (0 mm) se corresponde con la mayor cantidad de plantas muertas (Gráfico 5.27).

Gráfico 5.25. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas en tres fechas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.26. Diferencias en el número medio de hojas verdaderas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*

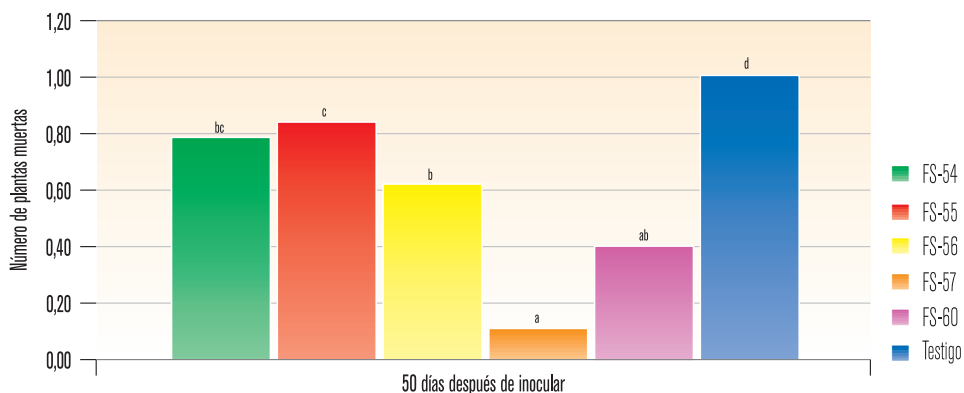


* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Como se comprueba en el Gráfico 5.26., los extractos obtenidos no tuvieron ningún efecto sobre las plantas en relación al número de hojas verdaderas desarrolladas en el primero de los controles efectuados (parte A del Gráfico). Sí se observaron ligeras diferencias 14 días después de inocular en relación al testigo (parte B).

Sin embargo, al dar por finalizado el ensayo y contabilizar el número de plantas muertas, no se puede explicar cómo en el testigo el porcentaje de mortandad llega al 100% mientras que la cepa FS-67 no ocasionó ni siquiera el 20% de pérdidas (Gráfico 5.27).

Gráfico 5.27. Diferencias en el número medio de plantas muertas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas y un testigo sin hongo en estado de dos cotiledones*



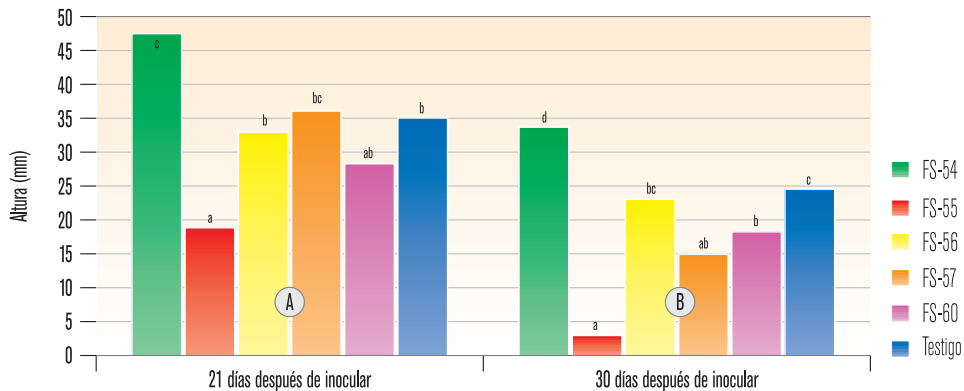
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

***Fusarium solani*: inoculación en plantas (2 hojas verdaderas)**

Como ya se había referido en los ensayos expuestos al principio de este apartado, la agresividad de las cepas (las que pudieran serlo) se vio más acentuada cuando la planta está más desarrollada. Así se verifica con la inoculación de los extractos cuando las plantas tenían dos hojas verdaderas: en el Gráfico 5.28. se puede observar la altura media de las plantas inoculadas con el aislado FS-55. Este efecto se mantuvo en los dos controles realizados (partes A y B del Gráfico 5.28.), pudiendo relacionarse con el fenómeno de fatiga.

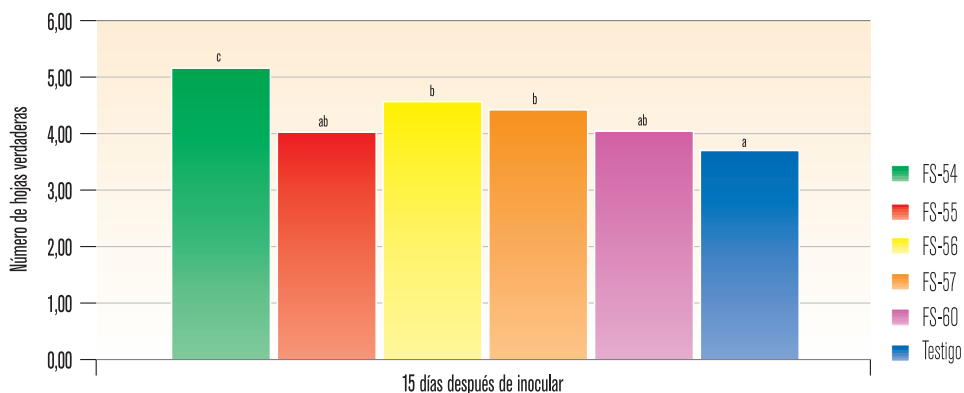
La reducción en el crecimiento, no implicó una disminución del desarrollo de las hojas, como así se demuestra en el Gráfico 5.29. Los resultados son también llamativos en relación al número de plantas muertas con a los aislados FS-55, FS-56 y FS-57.

Gráfico 5.28. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas en dos fechas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*



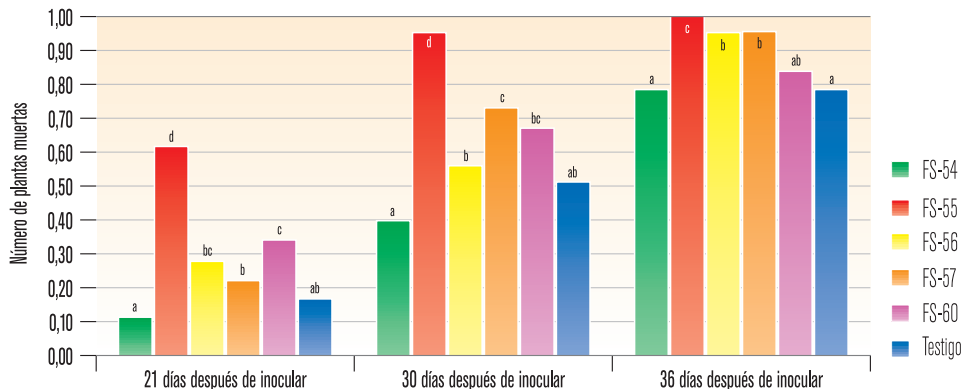
* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.29. Diferencias en el número medio de hojas verdaderas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.30. Diferencias en el número medio de plantas muertas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas y un testigo sin hongo en estado de dos hojas verdaderas*

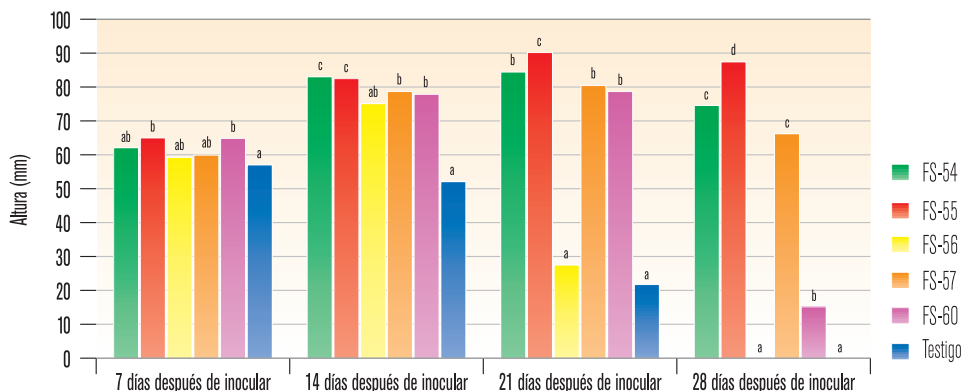


* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

***Fusarium solani*: inoculación en plantas (4 hojas verdaderas)**

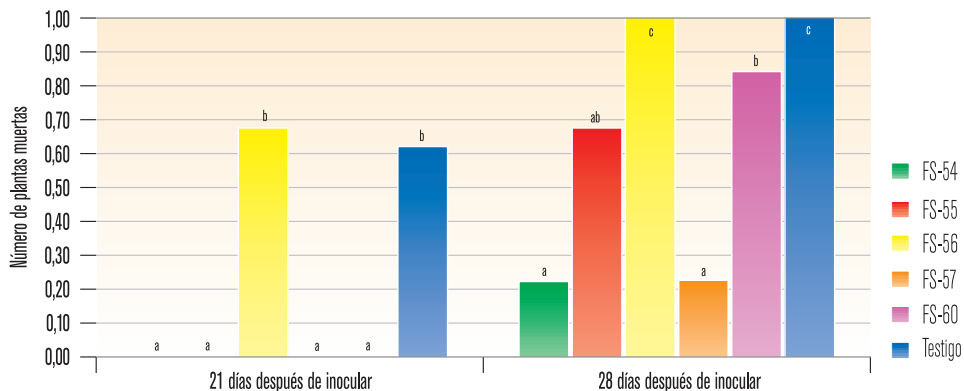
Las lecturas de la altura alcanzada por las plantas en diferentes momentos, muestran cómo las plantas sin inocular tuvieron el menor crecimiento vegetativo, especialmente en las dos últimas medidas registradas (Gráfico 5.31.), lo que implica mayor número de plantas muertas (Gráfico 5.32.).

Gráfico 5.31. Diferencias en la altura media alcanzada por las plantas en cuatro fechas por las cepas de *Fusarium solani* ensayadas y un testigo sin hongo en estado de cuatro hojas verdaderas*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.32. Diferencias en el número medio de plantas muertas entre las cepas de *Fusarium solani* ensayadas y un testigo sin hongo en estado de cuatro hojas verdaderas*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre cepas para cada fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

5.4.3. Patogeneidad de 2 especies de *Aspergillus* y 1 de *Penicillium* comparada con *F. solani*

Si *Fusarium solani* fue el hongo más frecuente en los análisis de suelo, también lo fue *Aspergillus* y en menor proporción, *Penicillium*. Parecía necesario evaluar a estos dos géneros desde el mismo punto de vista que se hizo para *Fusarium solani*, tomando a éste último como testigo comparativo. A tal fin se hicieron inoculaciones con los extractos completos conteniendo inóculo de estos hongos y para *Aspergillus* se evaluó, además, un efecto sobre la geminación de las semillas, eliminando los propágulos del hongo y dejando sólo el caldo en el cual se multiplicó. Realmente, solo se hizo una aproximación.

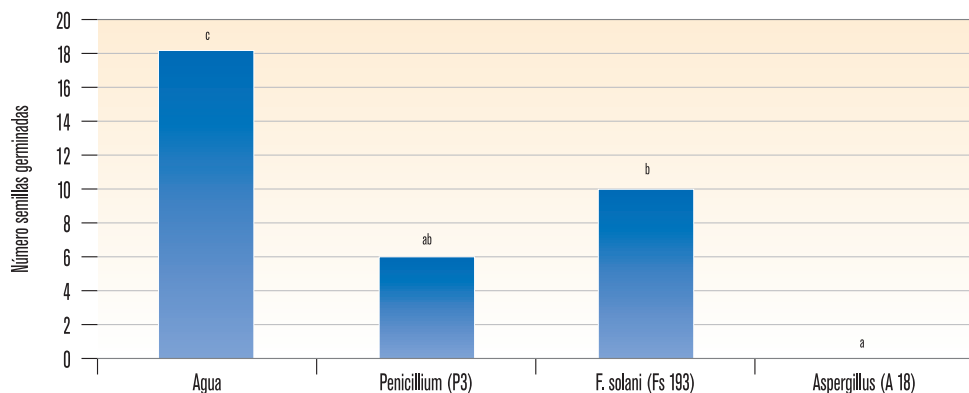
A) Inoculación en semillas en vermiculita

En el ensayo en el que se inocularon tres géneros distintos de hongos en estado de semillas en vermiculita, se comprueba la patogeneidad de *Penicillium* y *Aspergillus* frente al testigo sin nada, más que con *F. solani*, testigo inoculado comparativo (Gráfico 5.33.).

B) Inoculación en semillas en cámara húmeda

Al probar varias cepas de *Aspergillus flavus* y una de *Aspergillus niger* frente al testigo, se aprecia la agresividad de las cepas de *Aspergillus* cuando se inocula con el extracto sin diluir (1:1) especialmente a los diez días de efectuarse la inoculación (Gráfico 5.34.).

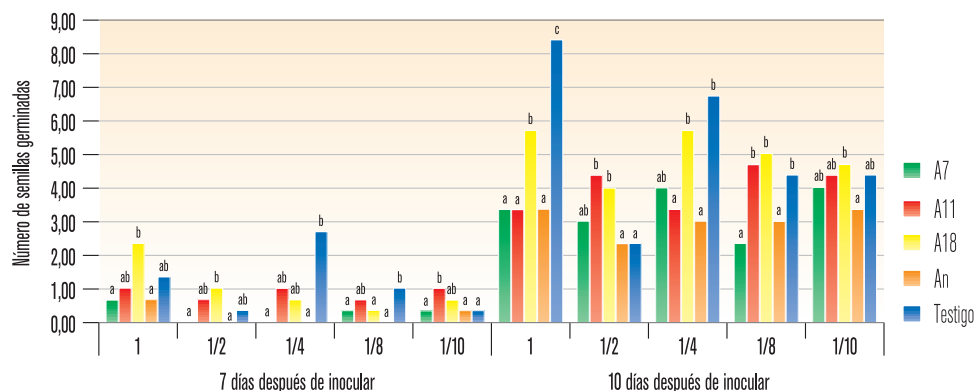
Gráfico 5.33. Diferencias en el número medio de semillas germinadas entre las cepas de *Penicillium*, *Fusarium solani* y *Aspergillus* ensayadas y un testigo sin hongo inoculadas en estado de semillas*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

El mismo efecto sobre las plantas observaron FERNÁNDEZ-CORRAL *et al.* (2002) al inocular *Aspergillus* sp. sobre la variedad Strike de judía, donde ninguna semilla logró germinar. En otras variedades que al menos, el mismo hongo dejó germinar, los efectos que se observaron en las plantas consistieron en una pérdida de vigor o del desarrollo de aquellas que estaban inoculadas frente a los testigos, no apreciándose ni podredumbres ni invasiones del xilema. En algunos casos, indican los autores, los cotiledones afloraron y el hipocotilo continuó creciendo, deteniéndose el crecimiento cuando los cotiledones se separaron, y por tanto, impidiendo el desarrollo de las hojas primarias.

Gráfico 5.34. Diferencias en el número medio de semillas germinadas entre las cepas de *Aspergillus* ensayadas y un testigo sin hongo inoculadas en estado de semillas*

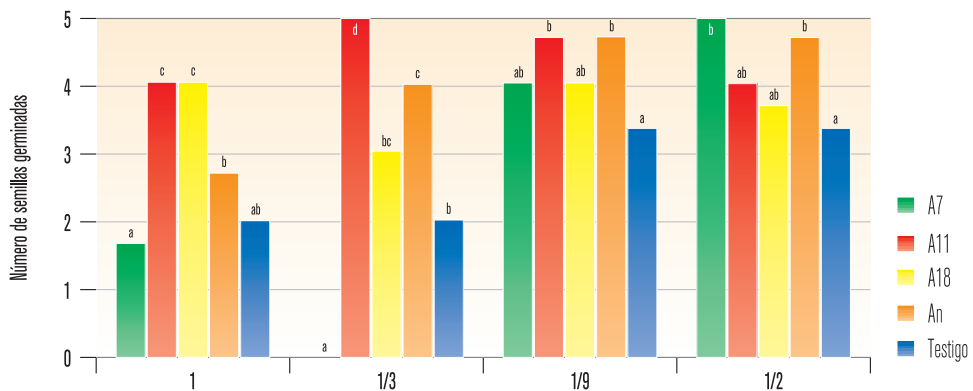


* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos para cada dosis y fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

AGRIOS (1997) también hace constar el poder inhibitor de *Aspergillus* sp., sin hacer referencia a la especie vegetal que afecta, cuando invade los embriones de las semillas, pues hace que disminuya notablemente el porcentaje de germinación de las semillas empleadas para siembra.

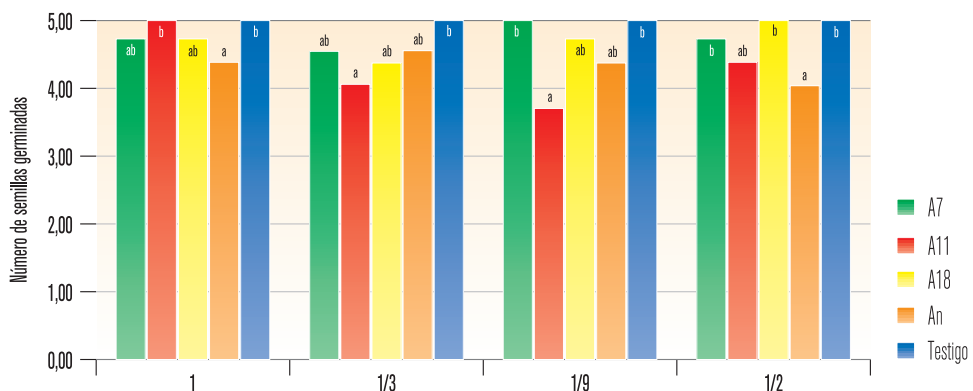
Tal y como se aprecia en el Gráfico 5.35., al comparar en el ensayo con filtro de 0,8 μ m las dosis diluidas 1/3, 1/9, y 1/2 con la solución madre, no se aprecia ningún efecto inhibitorio por parte de *Aspergillus*, a excepción de la cepa A-7 diluida 1/3. Se pudiera ver así el efecto del tamaño de luz del filtro.

Gráfico 5.35. Diferencias en el número medio de semillas germinadas por las cepas de *Aspergillus* ensayadas y un testigo sin hongo al filtrar el extracto con una membrana de 0,8 μ m*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos para cada dosis indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Gráfico 5.36. Diferencias en el número medio de semillas germinadas entre las cepas de *Aspergillus* ensayadas y un testigo sin hongo al filtrar el extracto con una membrana de 1,2 μ m*



* Los valores son la media de tres repeticiones. Letras distintas (a, b) entre tratamientos para cada dosis indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Test LSD al 95% con datos transformados mediante $\sqrt{(x+1)}$.

Sin embargo, al realizar el ensayo filtrando el extracto con un tamaño de luz mayor, de 1,2 μm , fueron todos los aislados, (a excepción del A-11), a determinadas dosis, las que manifestaron su efecto inhibitorio frente a las semillas control.

5.5. ENSAYO DE SÍNTESIS Y CONCLUSIONES

En relación a las inoculaciones efectuadas con *Fusarium solani*, los resultados mostrados exigen un ejercicio de reflexión. Reflexión que debe recoger la arbitrariedad en el comportamiento de *F. solani* cuando es inoculado, ya que en unas ocasiones se observa un efecto patogénico en relación al número de plantas muertas o en un efecto fatiga en cuanto a la disminución del desarrollo vegetativo y en otras ocasiones no.

Además, queda reflejada la dificultad en reproducir los mismos síntomas que una vez se produjeron.

Sí es cierto que cuando las inoculaciones se realizaron con plantas algo más desarrolladas, los experimentos revelaron un mayor número de aislados que reproducían los síntomas esperados, pues el peso seco de las plantas era inferior. ¿Significaría esta observación que las altas densidades de inóculo presentes al inicio del cultivo no afectan al mismo de igual forma que cuando se da esa presión a mitad del ciclo de cultivo, cuando las plantas son más maduras?

La respuesta podría venir relacionada con el apartado 4. analizado y pueda atribuírsele por tanto a este complejo fúngico la reducción del crecimiento y las producciones en los casos estudiados.

Los ensayos realizados con otros géneros de hongos quizás resulten preliminares y sean una aproximación de lo que puede ocurrir en campo. Los tanteos efectuados indican que *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. poseen un efecto inhibitorio en relación a la germinación de las semillas, pero en el que será necesario indagar con más detalle.

Referencias bibliográficas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABARCA, M. L. 2000. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17: S79-S84.
- ABU-AMRIEH, M., SABBAH, W., ISAAC, J. 1999. Impact of irrigated agricultural practices on environmental quality and human health in the West Bank. *American Journal of Alternative Agriculture*, 14: 165-170.
- ACERO, N., PROBARIZA, A., BLANCO, B., GUTIÉRREZ-MORENO, F. J. 1994. Seasonal changes in physiological groups of bacteria that participate in the nitrogen cycle in the rhizosphere of the alder. *Geomicrobiology*, 11: 33.
- AGRIOS, G. N. 1997. *Plant pathology* (4th edition). Ed. Academia Press. San Diego, (California), USA.
- AGUIRRE, I. I. 1998. Alternativas químicas al uso del bromuro de metilo para el control de nematodos. *Phytoma-España*, 101: 54-58.
- ALFARO, A., VEGH, I. 1971. La "tristeza" o "seca" del pimiento producido por *Phytophthora capsici* Leonian. Anales INIA. *Serie Protección Vegetal*, 1: 9-42.
- ALI, H., SUMMERELL, B. A., BURGESS, L. W. 1991. An evaluation of three media for isolation of *Fusarium*, *Alternaria* and other fungi from sorghum grain. *Australasian Plant Pathology*, 20(4): 134-138.
- ALONSO, R., ALEMANY, A., ANDRÉS, M.F. 2004. La solarización como método de control alternativo del nematodo formador de quistes de la patata (*Globodera* sp.) en Mallorca. En: *XII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*. Lloret de Mar, Gerona, 26 septiembre-1 octubre. Resúmenes, 326.
- Anuario de Estadística Agroalimentaria 2002-2003. 2003. MAPA, Madrid, 697 pp.
- AOKI, T., O'DONNELL, K. 2006. Sudden-death syndrome of soybean in South America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. *Mycoscience*, 46, 162-183.
- AOKI, T., O'DONNELL, K., HOMMA, Y., LATANZI, A. 2003. Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species

- within the *Fusarium solani* species complex-*F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. *Mycologia*, 95, 660-684.
- AZPILICUETA, A., RODRÍGUEZ, A., ROMÁN, F., TAMARGO, O., LLOBELL, A. 2002. Aplicación de filtrados proteicos de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de enfermedades en cultivos de fresa. *En: XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Almería, 14-18 de octubre. Resúmenes, 258.
- BAO, J., FRAVEL, D., LAZAROVITS, G., CHELLEMI, D., VAN BERKUM, P., O'NEILL, N. 2000. Population structure of *Fusarium oxysporum* in conventional and organic tomato production in Florida. *In: Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*. November 6-9, Orlando (Florida) USA, 7:1-2.
- BARBER, S. A. 1962. A diffusion and mass-flow concept of soil nutrient availability. *Soil Science*, 93: 39-49.
- BAREA, J. M., AZCÓN-AGUILAR, C. 1982. Production of plant growth-regulating substances by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 43: 810-813.
- BARNETT, H. L., HUNTER, B. B. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess publishing company. Minneapolis, (Minnesota), USA. 3rd ed., 198 pp.
- BARTUAL, R., MARSAL J. L., LARBONELL A., TELLO J. C., CAMPOS T. 1991. Genética de la resistencia a *Phytophthora capsici* Leon. en pimiento. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, 17: 121-124.
- BARTUAL, R., LACASA A., MARSAL J.I., TELLO, J.C. 1993. Efecto episbórico en la resistencia a *Phytophthora capsici*. LEON. en pimiento (*Capsicum annum* L.). *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, 19: 485-490.
- BASALLOTE, M. J., BEJARANO, J., BLANCO, M. A., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M., MELERO, J. M. 1994. La solarización del suelo: una estrategia para controlar enfermedades causadas por organismos de suelo y reducir las alternativas de cultivo. *Investigación Agraria: Fuera de serie*, 2: 207-212.
- BELL, C. H., PRICE, N, CHAKRABARTI, B. 1996. *The methyl bromide issue*. Bell C H, Price N, Chakrabarti B., (eds.) J. New York, N.Y: Wiley & Sons, 254 pp.
- BELLO, A., ESCUER, M., SANZ, R., LÓPEZ, J. A., GUIRAO, P. 1997. Biofumigación, nematodos y bromuro de metilo en el cultivo de pimiento en invernadero. *En: A. López, J.A. Mora. (eds.) Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia. Jornadas, 11: 67-108.
- BELLO A., TELLO, J. 1997. El bromuro de metilo en la agricultura mediterránea. *En: A. Bello, J.A. González, J. Pérez Parra (eds.). Alternativas al bromuro de meti-*

- lo en la agricultura*. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, 19-30.
- 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*. Phytoma-España, DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 99-126.
- BELLO, A., LÓPEZ-PÉREZ, J. A., DÍAZ-VIRULICHE, L., SANZ, R., ESCUER, M., HERRERO, J. 1999. Biofumigation and organic amendments. *In*: *Regional Workshop on Methyl Bromide Alternatives for North Africa and Southern European Countries, United Nations Environment Programme* (UNEP), Francia, 113-141.
- BELLO, A., LÓPEZ-PÉREZ, J. A., DÍAZ-VIRULICHE, L. 2000. Biofumigación y solarización como alternativa al bromuro de metilo. *In*: J.Z. Castellanos, F. Guerra (Eds.) *Memoria del Simposio Internacional de la Fresa*, Zamora, INCAPA, México, 24-50.
- BELLO, A., LÓPEZ-PÉREZ, J. A., GARCÍA, A., ARCOS, S. C., ROS, C., GUERRERO, M. M., GUIRAO, P., LACASA, A. 2004. Biofumigación con solarización para el control de nematodos en cultivo de pimiento. *En*: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.). *Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 129-207.
- BEN-YEPHET, Y., FRANK, Z. R. 1989. Factors affecting the efficiency of metham sodium in controlling *Verticillium dahliae*. *Acta Horticulturae* 255: 227-234.
- BLACK, L. L., GREEN, S. K., HARTMAN, G. L., POULOS, J. M. 1991. Pepper diseases: a field guide. *In*: L.L. Black, S.K. Green, G.L. Hartman, and J.M. Poulos (eds.). *Asian Vegetable research and Development Center*, 98 pp.
- BLOK, W. J., LAMERS, J. G., TERMORSHUIZEN, A. J., BOLLEN, G. J. 2000. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *The American Phytopathological Society*, 90(3): 253-259.
- BOOTH, C. 1971. *The genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Key Surrey, England, 257 pp.
- BOUHOT, D. 1980. Le potentiel infectieux des sols (Soil infectivity). *Thèse doctorat ès sciences*. Université de Nancy I. France. 143 pp.
- BOUHOT, D. 1983. La fatigue des sols. Position du probleme et principe du diagnostique. *23 Colloque de la Societe Francaise de Phytopathologie*. INRA, París, 9-22.
- BRAGULAT, M. R., MARTÍNEZ, E., CASTELLÁ, G., CABAÑES, F. J. 2004. Selective efficacy of culture media recommended for isolation and enumeration of *Fusarium* spp. *Journal of Food Protection*, 67(1): 207-211.
- BRIERLEY, W. B., JEWSON, S. T. 1927. The quantitative study of soil fungi. *Proceedings of the 1st International Congress of Soil Science*, 3: 48-71.

- BURGES, A. 1960. *Microorganisms in the soil*. Ed: The Hutchinson and Company, London, England (Versión española: BURGES A. 1960. Introducción a la *microbiología del suelo*. (Ed.) Editorial Acribia. Zaragoza. Traducción: Andrés Suárez Suárez).
- BURGESS, J. L., MORRISSEY, B., KEIFER, M. C., ROBERSTON, W. O. 2000. Fumigant related illnesses: Washington states five years experience. *Journal of Toxicology, Clinical Toxicology*, 38: 7-14.
- BURGESS, L. W. 1981. General ecology of the fusaria, p. 225-235. In: P. E. NELSON, T. A. TOUSSOUN, R. J. COOK (ed.), *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. Pennsylvania State University Press: University Park, Pennsylvania, 237 pp.
- CABRERA, R., PRENDES, C., LORENZO, C. D., HODGSON, F. 1990. Enfermedades de la palmera canaria. Seminario de Fitopatología: el género *Fusarium*. *Phytoma España*, 18: 21-25.
- CALVERT, G. M., TALASKA, G. M., MUELLER, C. A., AMMENHEUSES, M., AUDREY, W. W., FAJEN, J. M., FLEMING, L. E., BRIGGLE, T., WARD, E. 1998. Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. *Mutation-Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 417: 115-128.
- CAMPBELL, K. O., COLLINS-GEORGE, N., ROBINSON, T. J., GRAHAM, P. H., BLAKE, C. D. 1971. Biología de los microorganismos. In: *Fundamentos de Agricultura Moderna*. Vol. 4. Ed. Aedos, Barcelona, 184 pp.
- CARDONA, R., RODRÍGUEZ, H., NASS, H. 1997. Distribución vertical de esclerocios y control del hongo *Macrophomina phaseolina* con el hongo antagonista *Trichoderma* spp. *Fitopatología Venezolana*, 10 (2): 39.
- CASTELLÁ, G., BRAGULAT, M. R., RUBIALES, M. V., CABAÑES, F. J. 1997. Malachite green agar, a new selective medium for *Fusarium* spp. *Mycopathologia*, 137(3): 173-178.
- CATSKÁ, V., MACURA, J., VAGNEROVA, K. 1960. Rhizosphere microflora of wheat III. Fungal flora for wheat rhizosphere. *Folia Microbial*, 5: 320-330.
- CEBOLLA, V., MAROTO, J. V. 2004. La desinfección como medio de control de la fatiga del suelo. *Comunitat Valenciana Agraria*, 26: 21-26.
- CENIS, J. L., FUCHS, P. 1988. Efecto comparado de la solarización y el metam sodio en un cultivo de pimiento en invernadero. *ITEA*, 75: 21-38.
- CHELLEMI, D. O. 2006. Innovative approaches to soil fumigation. *Proceedings of American Chemical Society National Meeting*.
- CHESTERS, C. G. C. 1940. A method for isolating soil fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 24: 352-353.
- CHESTERS, C. G. C., PARKINSON, D. 1959. On the distribution of fungi in the rhizospheres of oats. *Plant and Soil*, 11(2):145-156.

- CHIBA, Y., TAKEDA, Y. 2001. The effects of soil fertility on microflora in the rhizosphere. *Prefecture Horticultural Experimental Station*, 13: 15-24.
- COOK, R., BAKER, K. 1989. *The nature of practice of biological control of plant pathogens*. 2nd ed. USA, 539 pp.
- COOKE, R. C., WHIPPS, J. M. 1980. The evolution of modes of nutrition of fungi parasitic on terrestrial plants. *Biological reviews*, 55: 341-362.
- COSTA, J. C., ALEMÁN, S. 1982. Enfermedades y plagas que afectan al pimiento para pimentón. En: J. C. Costa, S. Alemán (eds.). *Pimiento para pimentón*. Consejería de Agricultura. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, 141 pp.
- COUTEAUDIER, Y. 1989. Interactions microbiennes darts le sol et la rhizosphere: analyse du déterminisme de la compétition entre populations de *Fusarium*. *Thèse doctorat*. Univ. Cl. Bernard, Lyon.
- CURL, E. A., TRUELOVE, B. 1985. *The rizosphere*, Springer, New York.
- DALAL, R. C. 1998. Soil microbial biomass- what do the numbers really mean? *Australian Journal Experimental Agriculture*, 38: 649-665.
- DE CAL, A., LARENA, I., GUIJARRO, B., LIÑÁN, M., MELGAREJO, P. 2002. Técnicas de formulación de agentes de biocontrol. En: *XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Almería, 14-18 octubre. Resúmenes, 67.
- DE CAL, A., MARTÍNEZ-TRECEÑO, A., LÓPEZ-ARANDA, J. M., MELGAREJO, P. 2004. Chemical alternatives to methyl bromide in Spanish strawberry nurseries. *Plant Disease*, 88: 210-214.
- DE CAL, A., MARTÍNEZ-TRECEÑO, A., SALTO, T., LÓPEZ-ARANDA, J. M., MELGAREJO, P. 2005. Effect of chemical fumigation on soil fungal communities in strawberry nurseries. *Applied Soil Ecology*, 28: 47-56.
- DE CARA, M., DIÁNEZ, F., ESTRADA, F. S., MONTOYA, S., TÉLEZ, E. J., SANTOS, M., TELLO, J. 2004. Presencia del patotipo 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* en suelos cultivados de melón en el estado de Colima (Méjico). *Bol. San. Veg. Plagas*, 30: 713-720.
- DE CARA, M., DIÁNEZ, F., SANTOS, M., FERNÁNDEZ, E., TELLO, J., ESTRADA, F., MONTOYA, S. 2006. Presence of *Fusarium oxysporum* f.sp *melonis* Race 1 in soils cultivated with Melon in the State of Colima (Mexico). *Geomicrobiology Journal*, 23 (5), 319-322.
- DE CARA, M. 2007. Los agentes incitantes del colapso del melón (*Cucumis melo* L.) en suelos cultivados de España, Guatemala, Honduras y México. Metodología sobre identificación y patogénesis. *Tesis Doctoral*. Universidad de Almería, 279 pp.

- DE HOOG, G. S., GUARRO, J., GENE, J., FIGUERAS, M. J. 2000. *Atlas of clinical fungi*. 2nd ed. Vol. 1. Centralbureau voor schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 1.160 pp.
- DI PRIMO, P., GAMLIEL, A., AUSTERWEIL, M., PERETZ-ALON, I., BENICHES, M., STEINER, B., KATAN, J. 2001. Evidence for accelerated degradation of Metham Sodium and dazomet in Israel. *In: Annual International Research Conference on Methyl Bromide alternatives and Emissions reductions*. San Diego. California USA, 5-9 November. Proceedings, 88: 1-5.
- DIÁNEZ, F. J. 2005. Evaluación de la capacidad supresita de la microbiota bacteriana y fúngica del compost de orujo de vid frente a hongos fitopatógenos. *Tesis doctoral*. Universidad de Almería. 276 pp.
- DÍAZ, S., RODRÍGUEZ, A., DOMÍNGUEZ, P., GALLO, L. 2002. Solarización: un tratamiento físico de desinfección de suelo que incrementa la producción del cultivo de tomate. *En: Actas del V Congreso Nacional de la SEAE*. Gijón, 16-21 septiembre, II: 1027.
- DOMMERGES, Y., MANGENOT, F. 1970. *Ecologie microbienne du sol*. Ed. Masson et cie^s. Paris, 796 pp.
- EGER, J.E. 2000. Efficacy of Telone products in Florida Crops: a seven year summary. *In: International Research Conference on Methyl Bromide After natives and Emissions Reductions EPA*, Orlando (Florida) USA, 4-7 November. Proceedings: 7, 1-2.
- ELAD, Y., HADAR Y., CHET, I. 1983. The potential of *Trichoderma harzianum* as a bio-control agent under field conditions. *In: Les antagonismes microbiens. Modes d'action et application a la lutte biologique contre les maladies des plantes*. 24^e Colloque de la Société française de Phytopathologie.
- Estadística Agraria de Murcia 2002-2003. Ed. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. Consejería de Agricultura y Agua, 154 pp.
- FAO, 2003. FAO Statistical yearbook.
- FECOAM-Estimación de la valoración de la Campaña Agrícola Regional 02/03.
- FERNÁNDEZ, P., GUERRERO, M. M., ROS, C., BELLO, A., GARCÍA, A., LACASA, A. 2004a. Efectos de la biofumigación con solarización sobre las características físico-químicas de los suelos de pimiento del Sureste español. *Actas de Horticultura*, 42: 6-12.
- FERNÁNDEZ, P., GUERRERO, M. M., ROS, C., MARTÍNEZ, M. A., LACASA, A., BELLO, A. 2004b. Las características físicas y químicas de suelos de pimiento desinfectados mediante biofumigación con solarización. *En: VI Congreso de la SEAE. II Congreso Iberoamericano de Agroecología*. Almería, 27 de septiembre-2 de octubre. Resúmenes, 171.

- FERNÁNDEZ, P., GUIRAO, P., ROS, C., GUERRERO, M. M., QUINTO, V., LACASA, A. 2004. Efecto de la biofumigación con solarización sobre las características físicas y químicas del suelo. *En*: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.). *Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 259-278.
- FERNÁNDEZ-CORRAL, J. A., SANTOS, M., BLANCO, R., TELLO, J. 2002. estado sanitario de las semillas de judía en los cultivos de Caniles (Granada). *PHYTOMA España*, 139: 16-21.
- FISHER, N. L., BURGESS, L. W., TOUSSON, T. A., NELSON, P. E. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving *Fusarium* species. *Phytopathology*, 72: 151-153.
- FISHER, N. L., BURGESS, L. W., TOUSSON, T. A., NELSON, P. E. 1983. Taxonomic importance of microconidial chains in *Fusarium* section *Liseola* and effects of water potential on their generation. *Mycologia*, 75: 693-698.
- FOURIE, P. H., HALLEEN, F., VAN DER VYVER, J., SCHREUDER, W. 2001. Effect of *Trichoderma* treatments on the occurrence of decline pathogens in the roots and rootstocks of nursery grapevines. *Phytopathologia Mediterranea*, 40: S473-S478.
- FRENZEL, B. 1960. Zur Aetiologie der Anreicherung von Animosarum und Amiden im Wurzelraum von Helianthus annuus. *Planta*, 55-169.
- FRAZIER, W. C., WESTHOFF, D. C. 1978. *Microbiología de los alimentos*. 3ª ed. Acribia, Zaragoza, 522 pp.
- GAETÁN, S., MADIA, M. 1993. Presencia en la Argentina del marchitamiento del comino (*Cuminum cyminum* L.) causado por *F. oxysporum* Schl. f. sp. *patel* Prasad, Mathur & Mathur. *Boletín Sanidad Vegetal*, 19: 503-507.
- GAMAYO, J. 1996. *Pimientos*, 33-39. Ed. de Horticultura, Reus, 167 pp.
- GAMLIEL, A., STAPLETON, J. J. 1993. Effect of soil amendment with chicken compost or ammonium phosphate and solarization on pathogen control, rhizosphere microorganisms and lettuce growth. *Plant Disease*, 77: 886-891.
- GAMLIEL, A., AUSTERWEIL, M., KRITSMAN, G. 2000. Non-chemical approaches to soil-borne pest management-organic amendments. *Crop Protection*, 19: 847-853.
- GARBEVA, P., VAN VEEN, J. A., VAN ELSAS, J. D. 2004. Microbial diversity in soil: selection microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology*, 42: 243-270.
- GARCÍA, P. A., SANTAMARÍA, C., RUIZ, J. C., DAZA, A. 2004. Efecto beneficioso de la agricultura ecológica sobre los microorganismos del suelo. *En*: VI Congreso Nacional de la SEAE. Almería, 14-18 octubre. Resúmenes: 173.

- GARDNER, W. K., PARBERY, G. D., BARBER D. A., SWINDEN, L. 1983. The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L.V. The diffusion of exudates away from roots: a computer simulation, *Plant and Soil*, 72: 13.
- GARRET, S. D. 1951. Ecological groups of soil fungi: a survey of substrate relationships. *New Phytopathology*, 50: 149-166.
- GARRET, S. D., 1956, *Biology of root-infesting fungi*. Ed. Cambridge University Press.
- GARRET, S. D. 1970. *Pathogenic Root-Infecting Fungi*. Ed. Cambridge University Press. Great Britain.
- GERLACH, W., NIRENBERG, H. 1982. *The genus Fusarium, a pictorial atlas*. Mitt. Biol. Bundesanst. Land Forstwirtschaft. Berl. *Dahlem*, 209: 1-406.
- GIL, R., GUTIÉRREZ, M. 2001. « Rioseco », nueva variedad de pimiento para pimentón. *En: IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas*. Cáceres, 7-11 mayo. Resúmenes, 343.
- GIL, R., PALAZÓN, C., LUMBREAS, M. 2001. "Piver" nueva variedad de pimiento tipo piquillo. *En: IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas*. Cáceres, 7-11 mayo. Resúmenes, 198.
- GILREATH, J. P., SANTOS, B. M. 2004. Methyl bromide alternatives for weed and soil-borne disease management in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Crop Protection*, 23: 1.193-1.198.
- GÓMEZ-VÁZQUEZ, J. M. 1989. Enfermedades causadas por hongos de suelo en melón y pepino. Jornadas Técnicas sobre los cultivos de melón y pepino. Almería, 9, 10 y 11 de noviembre, 1988. *Cuadernos de Fitopatología*, 3^{er} trimestre 1989, 106-108.
- GONZÁLEZ, R. 1985. Densidad de inóculo y estructura de virulencia en poblaciones de *Fusarium oxysporum* Schlecht y *Fusarium solani* (Mart.) Appl. Et Wr. que infectan garbanzo en Andalucía Occidental. *Tesis Doctoral*, Universidad de Córdoba, Córdoba, 95 pp.
- GONZÁLEZ, A., FERNÁNDEZ, J. A., MUÑOZ, J., BOTÍA, A. 1992. El pimiento para consumo en fresco cultivado en invernadero en la Región de Murcia. *Hortofruticultura*, 7/8: 29-35.
- GONZÁLEZ, A., FERNÁNDEZ, J. A., FRANCO, J. A., PÉREZ, J. E. 1993. Pimiento en la Región de Murcia. *Agricultura intensiva y subtropical*, 82: 38-44.
- GONZÁLEZ A., FERNÁNDEZ J. A., BAÑÓN S., FRANCO J. A. 1998. Estructuras de invernadero en el año 2000. *Plantflor*, 11-15.
- GONZÁLEZ, S., DOMÍNGUEZ, P., RODRÍGUEZ, A., GALLO, L. 2002. Comportamiento de formulados comerciales de biocontrol frente a *Phytophthora cinnamomi* Rands. *En: XI Congreso Nacional de la SEF*, Almería, 14-18 octubre. Resúmenes, 271.

- GRANADOS, M. M., WANG, A. 2005. Aislamiento e identificación de hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum*, causante de la pudrición blanca de la cebolla en la zona alta de Cartago, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 29(1): 57-66.
- GRIFFIN, G. J., FORD, R. H. 1974. Soil fungistasis: fungus spores germination in soil at spores densities corresponding to natural population levels. *Canadian Journal of Microbiology*, 20, 751-754.
- GRIFFITHS, E., SIDDIQUI, M. A. 1961. Some factors affecting occurrence of *Fusarium culmorum* in the soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 44(3): 343-353.
- GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. A., LACASA, A., MARTÍNEZ, M. C., GUIRAO, P., BARCELÓ, N., ONCINA, M., ROS, C. 2002. Caracterización de la fatiga del suelo de invernaderos de pimiento del sureste peninsular. *En: XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Almería, 14-18 octubre. Resúmenes, 131.
- GUERRERO, M. M., LACASA, A., ROS, C., MARTÍNEZ, M. A., GUIRAO, P., BARCELÓ, N., MARTÍNEZ, M. C., BELLO, A., FERNÁNDEZ, P., QUINTO, V. 2003. Eficacia de la biofumigación con solarización reiterada en los suelos de invernaderos para cultivo ecológico de pimiento. *En: X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*, Pontevedra, 26-30 mayo. *Actas de Horticultura*, 39: 33-35.
- GUERRERO, M. M., ROS, C., BARCELÓ, N., MARTÍNEZ, M. A., MARTÍNEZ, M. C., GUIRAO, P., BIELZA, P., LACASA, A. 2004. Eficacia de nuevos desinfectantes de suelo de invernaderos de pimiento. *Actas de Horticultura*, 42: 13-19.
- GUERRERO, M. M., GUIRAO, P., LACASA, A.; ROS, C., TORRES, J., MARTÍNEZ, M. C., ONCINA, M., BIELZA, P., CONTRERAS, J. 2004a. La mezcla de dicloropropeno y cloropicrina, una alternativa al bromuro de metilo para la desinfección de suelos para el pimiento. *En: A. Lacasa, M. M. Guerrero, M. Oncina y J. A. Mora (eds.). Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 99-128.
- GUERRERO, M. M., LACASA, A., ROS, C., BELLO, A., MARTÍNEZ, M. C., TORRES, J., FERNÁNDEZ, P. 2004b. Efecto de la biofumigación con solarización en la desinfección de suelos de invernaderos de pimiento. *En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.). Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 209-238.
- GUERRERO, M. M., LACASA, A., ROS, C., MARTÍNEZ, M. A., LÓPEZ, J. A., GUIRAO, P., BELLO, A., TORRES, J., MARTÍNEZ, M. C., GONZÁLEZ, A. 2004c. La reiteración de la biofumigación con solarización en la desinfección de suelos de invernaderos de pimiento. *En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.). Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 239-248.

- GUERRERO, M. M., LACASA, A., ROS, C., GUIRAO, P., MARTÍNEZ, M. A., BARCELÓ, N., BELLO, A., FERNÁNDEZ, P., GONZÁLEZ, A. 2004d. La reiteración de la biofumigación con solarización y los efectos en la desinfección de suelos de invernaderos de pimiento. *En: XII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Almería, 14-18 octubre. Resúmenes, 245.
- GUERRERO, L., HERNÁNDEZ, M. A., LÓPEZ, M. F., CONDÉS, L. F., LÓPEZ, J., GONZÁLEZ, A. 2005. Casuística de enfermedades producidas por hongos en el cultivo del pimiento en invernadero en la Región de Murcia. *Agrícola Vergel*, 285: 416-420.
- GUERRERO, M. M., ROS, C., MARTÍNEZ, M. A., TORRES, J., MARTÍNEZ, M. C., BIELZA, P., CONTRERAS, J., LACASA, A. 2006. Uso reiterado de 1,3 dicloropropeno y cloropicrina en la desinfección de suelos de invernaderos de pimiento. *En: XIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Murcia, 18-22 septiembre. Resúmenes, 372.
- GUILLEMAT, J., MONTEGUT, J. 1956. Contribution a l'etude de la microflore fongique dans les sols cultivés. *Ann. Des Epiphyties*, 8: 185-207.
- GUIRAO, P., GUERRERO, M. M., ROS, C., LACASA, A., BELTRÁN, C., MARTÍNEZ, M. C., TORRES, J., ONCINA, M., CONTRERAS, J. 2004. La reducción de dosis de bromuro de metilo en el cultivo de pimiento y el calendario de retirada. *En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.). Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Región de Murcia. Jornadas, 16: 61-78.
- GULLINO, M. L. 2000a. Status of methyl bromide alternatives for soil fumigation in Southern Europe. *In: Methyl Bromide alternatives for North African and European Countries*. UNEP. Roma, 26-29 May. 1998. Proceedings: 87-92.
- GULLINO, M. L., KATAN, J., MATTA, A. 2000b. Chemical and non-chemical soil and substrate disinfestations. *Acta Horticulturae*, 532: 1-256.
- GULLINO, M. L., CAMPONOGARA, A., GASPARRINI, G., RIZZO V., VLINI, C., GARIBALDI, A. 2003. Replacing methyl bromide for soil disinfestations: The Italian experience and implications for other countries. *Plant Disease*, 87: 1.012-1.021.
- HARLEY, J. L., WAID, J. S. 1955. The effect of light upon the roots of beech and its surface population. *Plant and Soil*, 7: 96-112.
- HAU, F. C., CAMPBELL, C. L., BEUTE, M. K. 1982. Determination of yield losses to *Sclerotium rolfsii* in peanut fields. *Plant Disease*, 59: 855-858.
- HAWEN, M. C. 1990. Living plant cells released from the root cap: a regulator of microbial populations in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 129: 19.
- HERMOSA, M. R., GRONDONA, I., MONTE, E., GARCIA-ACHA, I. 1998. Evaluación de la actividad antagonista de grupos moleculares de *Trichoderma harzianum* frente a

- Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. En: IX Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Salamanca, 19- 23 octubre. Resúmenes, 288.
- HORA, T. S., R. BAKER y G. J. GRIFFIN. 1977. Experimental evaluation of hypotheses explaining the nature of soils fungistasis. *Phytopathology*, 67: 373-379.
- HSU, S. C. y LOCKWOOD, J. L. 1971. Responses of fungal hyphae to soil fungistasis. *Phytopathology*, 61: 1.355-1.362.
- HUSSEIN, H. M., CHRISTENSEN, M. J., BAXTER, M. 2003. Ocurrance and distribution of *Fusarium* species in maize fields in New Zealand. *Mycopathologia*, 56(1): 25-30.
- IDRIS, A. I., AHMED, N. E., BABIKER, A. G. T. 1998. Biological control of *Striga hermonthica* with *Fusarium solani*. In: *Proceedings of the 7th International Congress of Plant Pathology*, Edinburgh (Scotland), 9-16 August Abstracts: 5.2.62.
- JACKSON, T. M. 1960. Soil fungistasis and rhizosphere. In: Parkinson, D., Waid, J.S. (eds.). *The ecology of soil fungi*. Liverpool University Press, England.
- JIMÉNEZ, C., SANABRIA, N. 1997. Control biológico in vitro de *F. oxysporum*. XV Congreso Venezolano de Fitopatología, Maracaibo (Venezuela), 23-27 de noviembre. *Fitopatología Venezolana*, 10(2): 33.
- JOHNSON, L. F., MANKA, K. 1961. A modification of Warcup's soil-plate method for isolation soil fungi. *Soil Science*, 92: 79-84.
- JUO, P., STOTXZKY, G. 1970. Electrophoretic separation of proteins from roots and root exudates. *Canadian Journal of Botany*, 48: 713.
- KARBAUSKIENE, E. 2000. The influence of organic fertilizers on microorganisms in tomato rhizosphere. *Scientific works*, 19(1): 122-133.
- KATAN, J., GREENBER, A., ALON, H., GRINSTEIN, A. 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soilborne pathogens. *Phytopathology*, 66: 683-688.
- KATAN, J. 1999. The methyl bromide issue: problems and potential solutions. *Journal of Plant Pathology*, 81 (3): 153-159.
- KATAN, J. 2005. Soil disinfestation: One minute before Methyl Bromide phase out. Procedures of VIth International Symposium on Chemical and Non-Chemical Soil and Substrate Disinfestation. *Acta Horticulturae*, 698: 19-25.
- KATZNELSON, H., ROUATT, J. W. 1957. Studies on the incidence of certain physiological groups of bacteria in the rizosphere. *Canadian Journal of Microbiology*, 3: 265-269.
- KJAER, A. 1976. Glucosinolates in cruciferae. In: J.G.Vaughan, A.J.Macleod, B.M.G.Jones (Eds). *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, Academic Press, London, 207-219.

- KLICH, M. A., PITT, J. I. 1988. *A laboratory guide to common Aspergillus species and their teleomorphs*. North Ryde, N.S.W. CSIRO Division of Food Processing, 116 pp.
- KLOTZ, L. V., NELSON, P. E., TOUSSOUN, T. A. 1988. A medium for enhancement of chlamydospore formation in *Fusarium* species. *Mycologia*, 80: 108-109.
- KO, W., LOCKWOOD, J. L. 1970. Mechanism of lysis of fungal mycelia in soil. *Phytopathology*, 60, 148-154.
- KOMADA, H. 1975. Development of a selective medium. for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Plant Disease*, 64: 450-454.
- KRITZMAN, G., BEN-YEPHET, Y. 1989. Effect of metham sodium on several bacterial diseases. *Acta Horticulturae* 255: 49-54.
- LACASA, A., GUIRAO, P. 1997. Investigaciones actuales sobre alternativas al uso del bromuro de metilo en pimiento de invernadero. *En*: A. López, J.A. Mora. (eds.) *Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia. Jornadas, 11: 21-36.
- LACASA, A., GUIRAO, P., GUERRERO, M. M., ROS, C., LÓPEZ-PÉREZ, J. A., BELLO, A., BIELZA, P. 1999. Alternatives to methyl bromide for sweet pepper cultivation in plastic-greenhouses in southeast Spain. International Workshop Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries. Proceedings. Heraklion, Creta (Grecia), 7-10 December. Ed. European Commission, 2001: 133-135.
- LACASA, A., GUERRERO, M. M., ROS, C., GUIRAO, P., TORRES, J., BIELZA, P., DE PACO, T., CONTRERAS, J., MOLINA, R., TORNÉ, M. 2002. Desinfección del suelo en invernaderos de pimiento con dicloropropeno + cloropicrina (Telopic EC). Dosis de aplicación y efecto del plástico de sellado. *Agrícola Vergel*, 245: 256-266.
- LACASA, A., GUERRERO, M. M., GUIRAO, P., ROS, C. 2002a. Alternatives to methyl bromide in vegetable crops and strawberry crops in Spain. *In*: T.A. Batchelor, J.M. Bolívar (eds.). *Proceedings of the International Conference on Alternatives to Methyl Bromide. The Remaining Challenges*. Seville, Spain, 5-8 March. European Commission, Brussels, Belgium, 172-177.
- LACASA, A., GUERRERO, M. M., ROS, C., GUIRAO, P., TORRES, J., BIELZA, P., DE PACO, T., CONTRERAS, J., MOLINA, R., TORNÉ, M. 2002b. Desinfección de suelos de invernaderos de pimiento con dicloropropeno + cloropicrina (Telopic EC). Dosis de aplicación y efecto del plástico de sellado. *Agrícola Vergel*, 245: 256-266.
- LACASA, A.; GUERRERO, M. M.; ROS, C.; MARTÍNEZ, M. A.; BARCELÓ, N.; GUIRAO, P.; MARTÍNEZ, M. C.; BIELZA, P. 2004. Chemical alternatives to methyl bromide for soil disinfestations in sweet pepper greenhouses in the southeast of Spain. *In*: *6th International Symposium on chemical and non-chemical soil and substrate disinfestations*. Corfú, (Greece), 4-8 October. Proceedings, 28.

- LAITA, J. 1998. El metam sodio como alternativa al bromuro de metilo en cultivos hortícolas. *En: Alternativas al bromuro de metilo en agricultura*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Serie Congresos y Jornadas. 44/97, 99-101.
- LAITA, J. 2000. Cuatro años de experimentación con metam sodio como alternativa al bromuro de metilo. *Phytoma España*, 122:52-54.
- LANDERAS, E., GARCÍA, P., FERNÁNDEZ, Y., BRAÑA, M., ARMENGOL, J. 2004. Detección de *Fusarium circinatum* en *Pinus* spp. en Asturias. *En: XII Congreso Nacional de la SEF*, Lloret de Mar, Gerona, 26 de septiembre-1 de octubre. Resúmenes, 152.
- LEGAZ, C. 1985. Caracterización de cepas de *Phytophthora capsici* Leonian, aisladas del itoral mediterráneo, con vistas a su utilización en programas de introducción de resistencias en pimiento. *Trabajo Fin de Carrera*. EUITA. Orihuela (Alicante) Universidad Politécnica de Valencia, 197 pp.
- LEMANCEAU, P., ALABOUVETTE, C., COUTEADIER, Y. 1988. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XIV Modification du niveau de réceptivité d'un sol résistant et d'un sol sensible aux fusarioses vasculaires en réponse à des apports de fer ou de glucose. *Agronomie*, 8: 155-162.
- LESLIE, J. F., SUMMERELL, B. A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Professional Publishing, Ames, Iowa. 385 pp.
- LILJEROTH, E., BAATH, E. 1988. Bacteria and fungi on roots of different barley (*Hordeum vulgare* L.). *Biology and Fertility of Soils*, 7: 53.
- LIRA SALDIVAR, R. H., HERNÁNDEZ, M., HERNÁNDEZ, F. D. 2006. Activity of *Larrea tridentata* (D.C.) Coville L. extracts and chitosan against fungi that affect horticultural crops. *Revista Chapingo*. Serie horticultura, julio-diciembre, 12, n° 002: 211-216.
- LLOBELL, A., REY, M., CANNON, P. F., BUDDIE, A., LORITO, M., WOO, S., ELAD, Y., FREEMAN, S., KATAN, J., GONZÁLEZ, F., GRONDONA, I., MONTE, E. 2000. *Trichoderma* contribution to IPM strategies in European strawberry. *In: Annual International Research Conference on Methyl Bromide alternatives and Emissions reduction*. San Diego, California, USA, 5-9 November. Abstract, 17: 1-3.
- LOCASCIO, S. J., DICKSON, D. W. 2001. Alternative fumigants applied with PE and VIF mulches for tomato. *In: Annual International Research Conference on Methyl Bromide alternatives and Emissions reduction*. San Diego, California, USA, 5-9 November. Abstract, 17: 1-3.
- LOCKWOOD, J. L. 1977. Fungistasis in soil. *Biological Review*, 52: 1-43.
- LOCKWOOD, J. L. 1988. Evolution of concepts associated with soilborne plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 93-121.

- LOPER, J. E., SUSLOW, T. V., SCHROTH, M. N. 1984. Lognormal distribution of bacterial populations in the rhizosphere. *Phytopathology*, 74 (12): 1.454-1.460.
- LÓPEZ, A. 1998. El bromuro de metilo y el cultivo de pimiento en invernadero en el Campo de Cartagena. *Federación de Cooperativas Agrarias de Murcia*, 17:21-25.
- LÓPEZ, A. 2006. Diagnóstico sobre la situación actual del sector de pimiento de invernadero en la zona del Campo de Cartagena. Plan de reconversión del sector de pimiento de invernadero. *Federación de Cooperativas Agrarias de Murcia*, 35 pp.
- LÓPEZ-PÉREZ, J. A., BELLO, A., GARCÍA-ÁLVAREZ, A., ARIAS, M. 2004. Mediterranean agrosystems as an agroecological model for nematode management. *Nematology Monographs & Perspectives*, 2: 71-84.
- MADIA, M., GAETÁN, S., REYNA, S. 1999. Marchitez y podredumbre de la corona y de las raíces del coriandro causado por un complejo de especies del género *Fusarium* en Argentina. *Fitopatología*, 34(3): 155-159.
- MANDEEL, Q. 2002. Microfungal community associated with rhizosphere soil of *Zygo-phyllum qatariense* in arid habitats of Bahrain. *Journal of Arid Environments*, 50 (4): 665-681.
- MAROTO, J. V. 1989. La desinfección del suelo en horticultura. *Agrícola Vergel*, agosto: 425-428.
- MARTIN, J. P. 1950. Effect of fumigation and other soil treatments in the greenhouse on the fungal population of old citrus soil. *Soil Science*, 69:107-122.
- MARTÍNEZ, M. A., GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. C., LACASA, A., BARCELÓ, N., YÉ-LAMOS, J., TELLO, J. 2002. Estudios preliminares sobre la componente fúngica de la fatiga de suelos de invernaderos de pimiento. *En: Actas del V Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica*, Gijón 16-21 septiembre. Resúmenes: 134.
- MARTÍNEZ, M. A., GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. C., BARCELÓ, N., GUIRAO, P., ROS, C., LACASA, A., TELLO, J. 2003. La fatiga del suelo en cultivos convencionales y ecológicos de pimiento en invernadero: características y componentes. *En: X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*. Pontevedra, 26-30 mayo. *Actas de Horticultura*, 39: 36-37.
- MARTÍNEZ, M. A., GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. C., 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. *En: Actas del VI Congreso de la Sociedad Española de Agricultura ecológica*, Almería 27 septiembre-2 octubre. Resúmenes: 93.
- MARTÍNEZ, M. A., GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. C., ROS, C., BARCELÓ, N., LACASA, A., TELLO, J. 2004a. La biofumigación y la biofumigación con solarización y la evolución de la micoflora en la rizosfera del pimiento. *En: Actas del VI Congreso de*

- la Sociedad Española de Agricultura ecológica*, Almería 27 septiembre-2 octubre. Resúmenes: 94.
- MARTÍNEZ, M. A., GUERRERO, M. M., ROS, C., BARCELÓ, N., MARTÍNEZ, M. C., LACASA, A., TELLO, J. 2004b. La biofumigación y la biofumigación con solarización y la evolución de la micoflora en la rizosfera del pimiento injertado. *En: Actas del VI Congreso de la Sociedad Española de Agricultura ecológica*, Almería 27 septiembre-2 octubre. Resúmenes: 239.
- MARTÍNEZ, M. A., GUERRERO, M. M., ROS, C., BARCELÓ, N., MARTÍNEZ, M. C., LACASA, A., TELLO, J. 2004c. La biofumigación y la biosolarización y la evolución de la micoflora en la rizosfera del pimiento injertado. *En: VI Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica*, Almería, 27 septiembre-2 octubre. Resúmenes, 239.
- MARTÍNEZ, M. A., GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. C., TORRES, J., ROS, C., LACASA, A. 2005. Variaciones temporales en la micoflora fúngica de los suelos cultivados de pimiento bajo invernadero. *En: Actas del IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas*, Oporto (Portugal) 22-27 mayo. Vol. 7: 126-129.
- MARTÍNEZ, M. A., GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. C., BARCELÓ, N., ROS, C., LACASA, A., TELLO, J. 2004. Efecto de la biosolarización reiterada sobre la microbiota fúngica de la rizosfera de pimiento. *En: VI Congreso de la SEAE*. Almería, 27 septiembre- 2 octubre. Resúmenes: 93.
- MARTÍNEZ, P. M. 2005. Combinación del injerto en pimiento con desinfectantes químicos y no químicos del suelo como alternativa al bromuro de metilo. *Trabajo fin de carrera*. ETSIA. Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, 133 pp.
- MBTOC. 1997. *Report of the technology and economic assessment panel*. United Nations Environmental Program, Nairobi, (Kenia), 221 pp.
- MBTOC. 1998. *Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee*. Assessment of Alternatives to Methyl Bromide, UNEP, Nairobi (Kenia), 354 pp.
- MEHARG, A. A., KILLHAM, K. 1991. A novel method of determining root exudates in the presence of soil microflora. *Plant and Soil*, 133: 111.
- MEHARG, A. A., KILLHAM, K. 1995. Loss of exudates from the roots of perennial ryegrass inoculated with a range of microorganisms. *Plant and Soil*, 170: 345.
- MESSIAEN, C. M., CASSINI, R. 1968. Recherches sur les fusarioses. IV. La systématique des *Fusarium*. *Ann. Épiphyt.*, 19: 387-454.
- MIGUEL, A. 1997. El injerto como alternativa al uso del bromuro de metilo. *En: A. López, J.A. Mora (eds.). Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia. Jornadas, 11: 47-50.

- MINUTO, A., GILARDI, G., POME, A., GARIBALDI, A., GULLINO, M. L. 2000. Chemical and physical alternatives to methyl bromide for soil disinfection: results against soil-borne diseases of protected vegetables crops. *Journal of Plant Pathology*, 83 (3): 179-186.
- MINUTO, A., GILARDI, G., BALLI, L., TITONE, P., GULLINO, M. L. 2001. Application of chloropicrin + 1,3 dichloropropene through soil infection in Northern Italy. *In: Annual International Research Conference on Methyl bromide. Alternatives and Emissions Reductions*. Orlando, Florida, USA, 6-9 November. Abstracts, 43.
- MONTOYA, J. R., GÓMEZ-VÁZQUEZ, J. M., BLANCO PRIETO, R., TELLO, J. 2001. Estado sanitario de las semillas de plantas aromáticas cultivadas en Almería. *Bol. San. Veg. Plagas*, 27: 345-354.
- NELSON, P. E., TOUSSOUN, T. A., MARASAS, W. F. O. L. 1983. *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Press, University Park, p. 39-48.
- NELSON, P. E. 1992. Taxonomy and biology of *Fusarium*. *Mycopathology*, 117: 29-36.
- NELSON, P. E., DIGNANI, M. C., ANAISSIE, E. J. 1994. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical microbiology reviews*, 7(4): 479-504.
- NUEZ, F., DÍEZ, M. J., RUIZ, J. J., FERNÁNDEZ DE CÓRDOVA, P., COSTA, J., CATALÁ, M. S., GONZÁLEZ, J. A., RODRÍGUEZ, A. 1998. *Catálogo de semillas de pimiento*. Monografías INIA N1 105. MAPA, Madrid, 108 pp.
- PALAZÓN, C. 1988. Estudio de los posibles métodos de control de la tristeza o seca del pimiento. *Tesis Doctoral*. Universidad Politécnica de Valencia, 231 pp.
- PALAZÓN, C., PALAZÓN, I. 1989. Estudios epidemiológicos sobre la «tristeza» del pimiento en la zona del Valle Medio del Ebro. *Boletín Sanidad Vegetal. Plagas*, 15: 233-262.
- PAPAVIZAS, G. C., DAVEY, C. B. 1959. Evaluation o various media and antimicrobial agents for isolation of soil fungi. *Soil Science*, 88: 112-117.
- PARKINSON, D. 1957. New methods for the qualitative and quantitative study of fungi in the rhizosphere Symposium méthodes d'études microbiologiques du sol. Université catholique de Louvain. *Pedologi Gand*, 7:146-154.
- PARKINSON, D., CLARKE, J. H. 1961. Fungi associated with the roots of *Allium*. *Plant and soil*, 13: 384-390.
- PARKINSON, D., TAYLOR, G.S., PEARSON, R. 1963. Studies on fungi in the root region I. The development of fungi on young roots. *Plant and soil*, 19(3): 332-348.
- PAULITZ, T., BÉLANGER R. 2001. Biological control in greenhouse systems. *Annual. Review of Phytopathologie*, 103-132.

- PELAGATTI, O., CAROPPO, S., AMBROGIONI, L., LAMBERTI, F., DE SILVA, J. 1998. Effect of methyl bromide on the soil microflora. *Nematologia Mediterranea*, 26: 77-89.
- PELCZAR, M. J., REID, R. D., CHAN, E. C. S. 1977. *Microbiología*. 4ª ed. McGraw-Hill, México, 826 pp.
- PERDOMO, A., GUADALUPE, A., RÍOS, D., SANTOS, B. 2000. Efectos de diferentes tratamientos de suelo no agresivos para el control de plagas y enfermedades en zanahorias en Tenerife. *Agrícola Vergel*, 221: 347-352.
- POCHON, J., DE BARJAC, H. 1958. *Traité de microbiologie des sols*. Ed. DUNOD. Paris. 685 pp.
- POCINO, S. 1997. Metam sodio y metam potasio como alternativa al uso del bromuro de metilo. En: A. López, J.A. Mora. (eds.) *Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Jornadas, 11: 37-40.
- POCINO, S. 1998a. Alternativas químicas al uso del bromuro de metilo. En: *Alternativas al bromuro de metilo en agricultura*. Serie Congresos y Jornadas. 44/97. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, 95-97.
- POCINO, S. 1998b. Metham sodium alternative to methyl bromide in Almería. En: Bello, A. et al., (eds.). *Alternatives to methyl bromide for the Southern European countries*. Editorial Phytoma. Valencia, 95-98.
- PORTER, I. J., BRETT, R. W., MATTNER, S. W., DONOHOE, H. E. 2005. Implications of the increased growth response after fumigation on future crop protection and crop production strategies. Proceedings of the 6 International Symposium on chemical and non-chemical soil and substrate disinfestations. *Acta Horticulturae*, 698: 229-237.
- PRIKRYL, Z., VANCURA, V. 1980. Root exudates of plants: VI Wheat root exudation as dependent of growth, concentration gradient of exudates and the presence of bacteria. *Plant and Soil*, 57: 69.
- QUILAMBAQUI, M. A. 2005. Aislamiento e identificación de especies de *Fusarium* spp. asociadas al declinamiento del espárrago (*Asparagus officinalis* L.) en cinco municipios de Guanajuato, México. *Revista Tecnológica ESPOL*, 18(1): 135-140.
- RAPPER, K. B., FENNEL, D. I. 1965. *The genus Aspergillus*. Williams & Wilkins, Baltimore, 273 pp.
- READ, N. D. 1991. Low-temperature scanning electron microscopy of fungi and fungus-plant interactions. In: K. Mendgen & D.-E. Lesemann ed. *Electron Microscopy of Plant Pathogens*, pp. 17-29. Springer-Verlag: Berlin.
- RECHE, J. 1991. *Enfermedades de hortalizas en invernadero*. M.A.P.A., Madrid, 189 pp.

- REYES, J. M., DE CARA, M., DIÁNEZ, F., SANTOS, M., BLANCO, R., SEGURA, J. M., SÁNCHEZ, J. A., TELLO, J. 2004a. Desinfección de suelos mediante biofumigación, solarización y biosolarización en el olivar. *En: XII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Lloret de Mar, Gerona, 26 septiembre-1 octubre. Resúmenes, 309.
- REYES, J. M., DE CARA, M., DIÁNEZ, F., SANTOS, M., SEGURA, J. M., BLANCO, R., SÁNCHEZ, J. A., TELLO, J. 2004b. Influencia de la biosolarización sobre una fracción de microbiota fúngica de los suelos de olivar. *En: XII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Lloret de Mar, Gerona, 26 septiembre-1 octubre. Resúmenes, 310.
- RINCÓN, L., PÉREZ, A., ABADÍA, A., SÁEZ, J., PELLICER, C. 2005. Fertirrigación localizada en un cultivo de pimiento grueso de invernadero en producción integrada II. Lixiviación de nutrientes. *Agrícola Vergel*, 287: 547-551.
- RODRÍGUEZ-MOLINA, M. C. 1996. Ensayo de caracterización de suelos agrícolas y forestales de Extremadura tomando como indicadores a *Fusarium* Link y *Pythium* Pringsheim: La representatividad del muestreo. *Tesis Doctoral*, EPSIA Madrid, Madrid, 209 pp.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. 1998. Alternatives to methyl bromide soil fumigation. *In: A. Bello, J.A. González Pérez, J. Tello (eds.), Alternatives to methyl bromide for the Southern European countries*. Comunicaciones Agroalimentarias de la Junta de Andalucía XX/97: 23-35.
- RODRÍGUEZ-MOLINA, M. C., TELLO-MARQUINA, J. C., TORRES-VILA, L. M., BIELZALINO, P. 2000. Micro-scale Systematic Sampling of soil: Heterogeneity in Populations of *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. roseum* and *F. moniliforme*. *Journal of Phytopathology*, 148: 609-614.
- RODRÍGUEZ-MOLINA, M. C., TORRES-VILA, L. M., TELLO, J. C., BLANCO, A., PALO, E. J. 2001. Caracterización de las poblaciones de *Fusarium* Link de suelos de dehesas de Badajoz. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*, 27: 433-437.
- ROS, C., MARTÍNEZ, M. A., LACASA, A., GUERRERO, M. M., GUIRAO, P., MARTÍNEZ, M. C., BARCELÓ, N., LÓPEZ, J. A. 2002. El injerto como forma de control de los patógenos en cultivos ecológicos de pimiento. *En: Actas del V Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica*, Gijón 16-21 septiembre. Resúmenes: 957-966.
- ROS, C., GUERRERO, M. M., LACASA, A., GUIRAO, P., MARTÍNEZ, M. A., MARTÍNEZ, M. C., BARCELÓ, N., ONCINA, M., BELTRÁN, C., BIELZA, P. 2002a. Comportamiento de patrones de pimiento frente a patógenos del suelo en invernaderos del Sureste. *En: XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Almería, 14-18 de octubre. Resúmenes, 275.
- ROS, C., GUERRERO, M. M., LACASA, A., GUIRAO, P., MARTÍNEZ, M. A., BARCELÓ, N., MARTÍNEZ, M. C., LÓPEZ, J. A., BELLO, A., RODRÍGUEZ, I. 2003. Evaluación de pa-

- tronos de pimiento para el control de patógenos en cultivos ecológicos de invernadero. *En: IX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas*, Pontevedra. Resúmenes, 38. *Actas de Horticultura*, 39: 38-39.
- ROS, C., GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. A., BARCELÓ, N., MARTÍNEZ, M. C., GUIRAO, P., BELLO, A., LACASA, A. 2004. La combinación injerto y biofumigación en el control de *Meloidogyne incognita* en pimiento de invernadero. *Actas de Horticultura*, 42: 25-31.
- ROS, C., GUIRAO, P., LACASA, A., GUERRERO, M. M., BELTRÁN, C., BIELZA, P., MARTÍNEZ, M. C., TORRES, J., ONCINA, M. 2004a. El metam sodio y el dazomet en la desinfección del suelo en invernaderos de pimiento. *En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.) Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 79-98.
- ROS, C., GUERRERO, M. M., MARTÍNEZ, M. A., BARCELÓ, N., MARTÍNEZ, M. C., BELLO, A., LACASA, A. 2004b. El injerto en pimiento combinado con la biofumigación con solarización. *En: Actas del VI Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica*, Almería, 27 septiembre- 2 octubre. Resúmenes, 254.
- ROS, C., GUERRERO, M. M., BELLO, A., BARCELÓ, N., MARTÍNEZ, M. A., MARTÍNEZ, M. C., LACASA, A. 2004c. Variaciones en la patogeneicidad de poblaciones de *Meloidogyne incognita* en pimiento. *En: XII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Lloret de Mar, Gerona, 26 septiembre-1 octubre. Resúmenes, 249.
- ROS, C., BELLO, A., LÓPEZ, J. A., MARTÍNEZ, M. C., GUERRERO, M. M., LACASA, A. 2004d. La interacción *Meloidogyne incognita* y *Phytophthora capsici* en pimiento. *En: X Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Lloret de Mar, Gerona, 26 septiembre-1 octubre. Resúmenes, 247.
- ROUXEL, F., BOUHOT, D. 1971. Recherches sur l'ecologie des champignons parasites dans le sol. IV. Nouvelles mises au point concernant l'analyse sélective et quantitative des *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* dans le sol. *Annual Review of Phytopathology*, 3(2): 171-188.
- ROVIRA, A. D., BOWEN, G. D., FOSTER, R. C. 1988. The insignificance of rhizosphere microflora and mycorrhizas on plant nutrition. *In: A. Lauchii and R.L. Bielski (eds.) Encyclopaedia of Plant Nutrition*, Springer- Verlag, Berlín, p. 61.
- ROVIRA, A. D. 1953. Some qualitative and quantitative aspects of the rhizosphere. *Australian Conference of Soil Science*. (Adelaide), 1: 1-7.
- RUSELL, J. 1954. Organismos que componen la población del suelo, 175-202. *En: Las condiciones del suelo y el desarrollo de las plantas*. Eds. Aguilar, Madrid. 770 pp.
- SACKENHEIM, R., SEPÚLVEDA, G., MONTEALEGRE, J. 1996. Efecto de la solarización y de la fumigación sobre la población natural de *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp.,

Fusarium spp. y *Fusarium oysporum* en el valle de Azapa, I Región de Chile. *Investigación Agrícola*, 16.

- SACRISTÁN, G., REGUERA, J. I., LÓPEZ, D. J. 2004. Evolución de la microbiota durante el proceso de biofumigación en suelos agrícolas. *En: XII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología*, Lloret de Mar, Gerona, 26 septiembre-1 octubre. Resúmenes, 330.
- SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., FRISVAD, J. C., FILTENBORG, O. 1995. Introduction to foodborne fungi. 4th ed., CBS, Baarn, Netherlands, p. 85-119.
- SANABRIA, N., GUADARRAMA, A., ROMERO, H. 2002. Caracterización de especies de *Fusarium* mediante patrones electroforéticos de proteínas. *Revista De la Facultad de Agronomía*, 28: 161-173.
- SCHONWITZ, R., ZEIGLER, H. 1982. Exudation of water-soluble vitamins and of some carbohydrates by intact roots of maize seedlings (*Zea mays* L.) into a mineral nutrient solution. *Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie*, 107: 7.
- SCHROEDER, M. 1998. Basamid G an alternative in soil fumigation. *In: A. Bello, J.A. González, M. Arias, R. Rodríguez-Kábana* (eds.). *Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. DGXI, E4, CSIC. Madrid, 205-210.
- SNEH, B., LOCKWOOD, J. L. 1976. Quantitative evolution of the microbial nutrient sink in soil in relation to a model system for soil fungistasis. *Soil Biology and Biochemistry*, 8: 65-69.
- SNYDER, W. C., HANSEN, H. N. 1940. The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 27: 64-67.
- SNYDER, W. C., TOUSSOUN, T. A. 1965. Current status of taxonomy in *Fusarium* species and their perfect Sitges. *Phytopathology*, 55: 833-837.
- SOLER, J. M. 1997. Telone y sanimul como alternativas al bromuro de metilo. *En: A. López y J. A. Mora* (eds.) *Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Publicación de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia. Jornadas, 11: 41-45.
- SØRENSEN, J. 1997. *The rhizosphere as a habit for soil microorganisms*. (J.D. Van Elsas, J. T. Trevors and E.M. Wellington, eds.) Marcel Dekker, New York, *Modern Soil Microbiology*, 21.
- STARKEY, R. L. 1929. Some influence of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil. *Soil Science*, 27: 310-334.

- STARKEY, R. L. 1931. Some influences of the development of higher plants upon the micro-organisms in the soil: IV Influence of proximity of roots on abundance and activity of micro-organisms. *Soil Science*, 32: 367-393.
- STARKEY, R. L. 1938. A study of spore formation and other morphological characteristics of *Vibrio desulfuricans*. *Arch. Mikrobiol.* 9: 368-404.
- STEINER, G. W., LOCKWOOD, J. L. 1969. Soil fungistasis: sensitivity of spores in relation to germination time and size. *Phytopathology*, 59: 1.084-1.090.
- STEINER, G. W., LOCKWOOD, J. L. 1970. Soil fungistasis: mechanism in sterilized, reinoculated soil. *Phytopathology*, 60: 89-91.
- SUBBA RAO, N. S. 1999. Organic matter decomposition. In: N. S. Subba Rao. (4th ed.) *Soil microbiology*, Science Publishers, USA, 320 pp.
- SUBBA RAO, N. S. 1999. Organic matter decomposition. In: N. S. Subba Rao. (4th ed.) *Soil microbiology*, Science Publishers, USA, 320 pp.
- SULLIVAN, D. 2000. Metam sodium sealing methods to increase dose of biocida and improve efficacy. In: *Annual Internacional Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*. San Diego, California (USA), 5-9 November. Abstracts, 90: 1-4.
- SUMMERELL, B., SALLEH, B., LESLIE, J. 2003. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant disease*, 87: 117-128.
- SUTTON, C. B. 1980. *The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with pycnidia acervuli and stroma*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. UK., 696 pp.
- TAYLOR, G. S., PARKINSON, D. 1964. Studies on fungi in the root region IV. Fungi associated with the roots of *Phaseolus vulgaris* L.. *Plant and soil*, 22(1): 1-20.
- TELLO, J. C. 1984. Enfermedades criptogámicas en hortalizas. INIA. *Serie Proyección. Vegetal*, 22, 247 pp.
- TELLO, J., LACASA, A., MOLINA, R. 1985. Una nota fitopatológica sobre el "complejo parasitario" del pie de la judía (*Phaseolus vulgaris* L.). *ITEA*, 61: 57-69.
- TELLO, J., BERNAO, A., FERNÁNDEZ, E., IMEDIO, D. 1986. Notas sobre las micosis del melón en La Mancha. *ITEA*, 63: 45-60.
- TELLO, J. C., LACASA, A., VARÉS, F., MIJARES, A. 1987. Alteraciones radiculares en pimiento y habas de origen no parasitario. *Cuadernos de Fitopatología*, 10: 38-41.
- TELLO, J. C., LACASA A. 1990. *Fusarium oxysporum* en los cultivos intensivos del litoral mediterráneo de España. Fases parasitaria (fusariosis vasculares del tomate y del clavel) y no parasitaria. *Boletín de Sanidad Vegetal* Fuera de Serie 19, 190 pp.

- TELLO, J. C. 1990a. La taxonomía del género *Fusarium*. *Phytoma España*, 19: 51-63.
- TELLO, J.C. 1990b. Especificidad parasitaria en el género *Fusarium*. *Phytoma España*, 20: 47-52.
- TELLO, J. C, VARÉS, F., LACASA, A. 1991. Análisis de muestras, 39-48. *In: Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos*. MAPA, Madrid, 485 pp.
- TELLO, J. C., RODRÍGUEZ, M. C., LACASA, A. 1992. Importancia de *Fusarium* en las arenas de playas de España. *ITEA*, 88 (2): 77-94.
- TELLO, J., LACASA, A. 1997. Problemática fitosanitaria del suelo en el cultivo del pimiento en el campo de Cartagena. *En: A. López y J.A. Mora (eds.). Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero*. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Región de Murcia. Jornadas, 11: 11-18.
- TELLO, J., LACASA, A. 2004. Las enfermedades de origen edáfico y su control en los pimentonales del Campo de Cartagena. Una interpretación retrospectiva del sexenio 1979-1985. *En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora Eds. Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas, 16: 11-26.
- TORÉS, J. A. 1994. La podredumbre blanca. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bari. *En: R. Moreno, (ed.). Sanidad vegetal en la horticultura protegida*. Publicación de la Junta de Andalucía. *Cursos Superiores*, 1: 319-330.
- TRIBE, H. T. 1957. On the parasitism of *Sclerotium trifolium* by *Coniothyrium minitans*. *Transactions of the British Mycological Society*, 40: 489-499.
- TURKINGTON, T. K., MORRALL, R. A. A., GUGEL, R. K. 1991. Use of petal infestation to forecast *Sclerotinia* stem rot of canola: evaluation of early bloom sampling. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 13: 50-59.
- TUSET, J. J. 1973. La "tristeza" o "podredumbre del pie" una enfermedad importante del pimiento. *Tria*, 219: 44-47.
- TUSET, J. J. 1977. Contribución al conocimiento del género *Phytophthora* de Bari en España. *Anales INIA, Serie Protección Vegetal*, 7: 11-106.
- VAN BERKUM, J. A, HOSTRA, H. 1979. Practical aspects of the chemical control of nematodos in soil. *In: Mulder J. (ed.). Soil Desinfestation*, 53-134.
- VANCURA, J., HANZLIKOVÁ, A. 1972. Root exudates of plants: IV. Differences in chemical composition of seed and seedlings exudates. *Plant and Soil*, 36: 271.
- WAKSMAN, S. A. 1927. *Principles of soil microbiology*. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD. 897 pp.

- WAKSMAN, S.A. 1944. Microbial antagonisms and antibiotic substances. The Commonwealth Fund., New York.
- WARCUP, J. H., 1950. The soil plate method for isolating fungi from soil. *Nature*, 166: 117-118.
- WARCUP, J. H., 1951. The ecology of soil fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 34: 376-399.
- WARCUP, J. H., 1960. Methods for isolation estimation of activity of fungi in soil. *In*: Parkinson and Waid (eds.). *The ecology of soil fungi*. Ed. Liverpool University Press, 3-18.
- WINDELS, C. 1991. Current status of *Fusarium* taxonomy. *Phytopathology*, 8: 1.048-1.050.
- WOLCAN, S. M., LORI, G. A., MONACO, C. I. 1999. *Fusarium moniliforme*, nuevo patógeno de los cultivos asiáticos de *Lilium*. *Investigación Agraria Producción Vegetal*, 14: 1-2.
- WOLCAN, S. M., LORI, G. A., RONCO, B. L., PERELLÓ, A. E., ALIPPI, H. E. 2000. Density of *Fusarium* spp. in soils from commercial carnation crops in Argentina. *Fitopatologia Brasileira*, 25: 161-167.
- WOLLENWEBER, H. W., REINKING, O. A. 1935. *Die Fusaria, ihre Beschreibung, Schad wirkung aund Bekämpfung*. Paul Parey, Berlin, 335 pp.
- YAO, S., MERWIN, I. A., ABAWI, G. S., THIES, J. E. 2005. Soil fumigation and compost amendment alter soil microbial community composition but do not improve tree growth or yield in an apple replant site. *Soil Biology and Biochemistry*, 5: 1-13.
- YÉLAMOS, J.A., CASTILLO, P., DIÁNEZ, F., VILLAESCUSA, J., SANTOS, M., CHEBÂANI, M., BLANCO, R., LACASA, A., TELLO, J. 2002. Efectos del bromuro de metilo y la biosolarización sobre la microbiota fúngica, actinomicética y bacteriana de suelos cultivados con pimiento en Murcia. *En: Actas del V Congreso de la SEAE*, Gijón 16-21 septiembre. Resúmenes: 1.023-1.026.
- ZAPATER, J. 1989. Desinfección de suelos. *Horticultura*, 50: 142-144.
- ZHENG YOU, Y., WONBO, S., JIHUN, K., SEONJA, P., SUNGJO, K., BAIKSANG, N., DUCKHWA, CH. 2004. Detection of aflatoxin-producing molds in Korean fermented foods and grains by multiplex PCR. *Journal of Food Protection*, 67(11): 2.622-2.626.

Resumen/ Summary

**RESUMEN/
SUMMARY**

RESUMEN

El pimiento es un monocultivo en más del 90% de los invernaderos en la Región de Murcia y en el sur de la provincia de Alicante desde hace más de un cuarto de siglo. El bromuro de metilo se ha venido empleando asiduamente, hasta su prohibición en el año 2005, para el control de los principales patógenos del suelo y para paliar los efectos de la fatiga del mismo, responsable del descenso de la producción a partir del segundo año de reiteración.

En la presente Memoria de Tesis Doctoral se estudia el efecto de las alternativas ensayadas para la sustitución del bromuro de metilo sobre las comunidades de hongos del suelo.

Los ensayos se han realizado en 8 invernaderos donde se cultiva pimiento, en 3 de ellos con fines experimentales y en 5 con fines comerciales. Se han muestreado suelos desinfectados por medios químicos y no químicos y se han analizado para conocer la microbiota fúngica no patógena. Para cada muestra se han utilizado dos métodos de análisis: la técnica de las diluciones sucesivas para conocer la microbiota fúngica total, y la de la adición del suelo al medio de cultivo para conocer la microbiota fusárica. El efecto de la desinfección se ha medido de forma colectiva e individual sobre las poblaciones fúngicas así como la persistencia del efecto de dichos productos sobre las mismas.

Se ha detectado siempre la misma cohorte de hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Penicillium* y a las especies *Fusarium solani*, *F. oxysporum* y *F. roseum* de los que *Aspergillus flavus* y *F. solani* han sido las dos especies aisladas con mayor frecuencia y abundancia.

La disminución de la densidad que tiene lugar tras la desinfección es temporal, produciéndose una recolonización fúngica en el suelo, variable en función del tratamiento.

Los resultados revelan que ningún desinfectante fue capaz de eliminar los hongos que habitualmente se aislaron, en todo caso, se redujeron los niveles de densidad, y no todos los desinfectantes lo hicieron con la misma eficacia. En la mayoría de casos, la combinación del 1,3 dicloropropeno +cloropicrina ha mos-

trado un comportamiento similar al del bromuro de metilo, al igual que la biosolarización. Asimismo, el control ejercido en las parcelas que fueron biofumigadas fue menor que si se retenían los gases generados en la fermentación con la solarización. Por otro lado, la adición de *Trichoderma* a las plántulas no ha demostrado ejercer efecto alguno sobre el resto de géneros fúngicos medidos.

La reducción en el crecimiento de las plantas y en la producción que se produjo en determinados tratamientos se relaciona con una mayor densidad de población fusárica.

El efecto depresivo sobre las plantas reproducido con la inoculación de extractos determinados de hongos sugiere que existe cierta patogeneicidad sobre el pimiento inoculado en condiciones controladas. Este aspecto requiere de futuras investigaciones para poner de manifiesto los efectos y los mecanismos por los que se producen.

SUMMARY

Sweet pepper has been grown as a monoculture in more than 90% of greenhouses in the Region of Murcia and in the South of Alicante province for more than twenty-five years. Methyl bromide has been used frequently, until its phase-out in 2005, to control the main soilborne pathogens and to mitigate the effects of soil fatigue, which is responsible for yield decrease since the second year of cropping.

In the present thesis, the effect of alternatives assayed for the replacement of methyl bromide over fungal communities has been measured.

Assays have been carried out in 8 greenhouses where sweet pepper is grown, three experimental greenhouses and five commercial greenhouses. Soils disinfested by chemical and non-chemical methods have been sampled and have been analyzed to determine total non-pathogenic fungi. For each sample, two methods of analysis have been used: successive dilution method, to determine total fungi and the method of addition of soil to the culture medium to determine fusaric fungi. Disinfestations effect and persistence have been measured individually and collectively for fungal communities.

The same fungal suite has been detected, which belongs to the genera *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus* and *Penicillium* and the species *Fusarium solani*, *F. oxysporum* and *F. roseum*. *Aspergillus flavus* and *F. solani* were the most abundant and frequently isolated species.

The reduction in the density which happens after disinfestations is temporary, and it produces a fungal recolonization in the soil which depends on the evaluated treatment.

The results show that no disinfectant was capable of removing the regularly isolated fungi; fungi level density was reduced but not every disinfectant worked with the same efficacy. For all cases, the combination of 1,3 dichloropropen+chloropicrin has shown a similar behaviour to methyl bromide and biosolarization. In the same way, control in biofumigated plots was inferior to plots cov-

ered by a plastic film. On the other hand, application of *Trichoderma* to plants has been shown to have no effect on the rest of measured fungi.

The reduction of growth and yield is related to a high fusaric fungal density.

The effect of soil fatigue which re-occurs with the inoculation of some fungal extracts suggests that there is some pathogen effect on sweet pepper plants under controlled conditions. This aspect will need future research to elucidate the effects and mechanisms that cause it.

