

Informe final Proyecto I+D y T

Estrategias de biofumigación y biosolarización para el control de *Phytophthora capsici* y *P. parasitica* en cultivos de pimiento de Murcia, Extremadura y País Vasco: efectos de enmiendas orgánicas

Cliente: DMAPTAP

Contacto Neiker:	Contacto Cliente:
Santiago Larregla del Palacio slarregla@neiker.eus 94 403 43 59	DMAPTAP

Ref. NEIKER: 32.01710.2
Ejercicio: 2014

Ref. DMAVTAP:
Fecha: 31-03-2014
Nombre: Santiago Larregla
Función: Investigador asociado

Acrónimo: BIOSOL

Título: Estrategias de biofumigación y biosolarización para el control de *Phytophthora capsici* y *P. parasitica* en cultivos de pimiento de Murcia, Extremadura y País Vasco: efectos de enmiendas orgánicas.

Jefe de proyecto: Larregla del Palacio, Santiago | **email:** slarregla@neiker.eus

Palabras clave:

Objeto: Biofumigación, Solarización, *Phytophthora*, Pimiento, enmiendas orgánicas

Aspecto: Ecología microbiana del suelo, Fitopatología

Finalidad: Producción ecológica, Producción integrada

Clasificación del proyecto:	Unidad de negocio: Innovación Agraria
Departamento: PPV	Campos de aplicación: Protección vegetal
Área estratégica: Cultivos hortícolas/intensivos	Línea: Control sanitario en la producción hortícola
Tipo de proyecto: Estratégico. Cofinanciado: INIA 2011-2014	Origen: COMITÉS PLANES ESTRATÉGICOS. Detalle: Hortícola

Objetivo: El proyecto se plantea como continuación de otro anterior que finalizó en 2011, y pretende abordar problemas no resueltos en dicho proyecto sobre el empleo de las técnicas de biofumigación y/o biosolarización para el control de la “tristeza” del pimiento producida por *Phytophthora capsici*, *P. parasitica* o *P. cryptogea* (según las zonas de cultivo), enfermedad considerada como un factor limitante del cultivo en los invernaderos de la Región de Murcia y del País Vasco y en el cultivo de pimiento al aire libre en Extremadura.

Objetivos específicos:

2. Ensayar en condiciones de invernadero en Murcia en otoño y de invernadero en País Vasco en verano y primavera la combinación de especies de *Brassicaceae* (frescas o peletizadas) con otros biofumigantes (gallinaza, estiércol fresco de ovino, tortas de extracción de biodiésel de semillas de *Brassicaceae*). Efecto en la inactivación del inóculo de *P. capsici*, en la producción de pimiento y en las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo.
5. Estudio de las condiciones que desencadenan la incidencia de la enfermedad producida por *Phytophthora cryptogea* en los invernaderos del País Vasco: patogeneidad de aislados, influencia de la humedad del suelo y de la asfixia del suelo, interacción con organismos del suelo. Caracterización de aislados para la evaluación de la resistencia genética al patógeno en pimiento.
6. Estudio en condiciones in vitro de laboratorio del efecto de diferentes concentraciones y tiempos de exposición al amoniaco y ácido nítrico en la inactivación de las oosporas de *P. capsici*.

Duración: 3 años | **Fecha de inicio:** 25/11/2011 | **Fecha final:** 25/11/2014 (INIA 31-06-15)

1. Equipo participante de NEIKER - Tecnalia

Participantes de NEIKER - Tecnalia

- + Jefe de Proyecto: Santiago Larregla
- + Otros participantes: Berdaitz Juaristi, Javier Elorrieta, Leire Abaunza

Otras entidades participantes o colaboradoras

- MIBA. Sdad. Coop. (Bizkaia), Avicola Arbaraiz en Egino (Álava), S.A.T. Bolaleku en Bakio (Bizkaia)
- LABORATORIO SANIDAD VEGETAL DFG, Dionisio Berra.

2. Informe sobre las actividades más destacadas de la investigación en el proyecto y resultados obtenidos

Incluir en este apartado

- + Actividades más destacadas por objetivo

Objetivo 2.2. Determinar en condiciones de invernadero en Murcia el efecto de la biofumigación y la biosolarización con varias enmiendas orgánicas en la inactivación de las oosporas de *P. capsici* / *P. cryptogea*, así como el efecto en las propiedades biológicas del suelo.

Bioindicadores salud del suelo en Murcia

En NEIKER se han realizado análisis de bioindicadores que permiten definir la salud del suelo en las muestras de suelo de los ensayos de biosolarización de los invernaderos experimentales del IMIDA en Murcia. Las muestras se enviaron desde el IMIDA a NEIKER por transporte urgente refrigerado con su humedad de partida y tamizadas por 2 mm. Una vez recibidas en NEIKER se conservaron en la nevera hasta analizarlas.

Se han analizado las siguientes muestras:

15 muestras de suelo muestreadas el 10-12-2012 – Al comienzo del cultivo de la campaña 2012-13 (después de realizar las biosolarizaciones de 2012). Entre febrero y mayo de 2013 se han analizado: actividades enzimáticas (ureasa, beta-glucosidasa, fosfatasa acida y alcalina, arilsulfatasa y deshidrogenasa), respiración basal, carbono de la biomasa microbiana, nitrógeno potencialmente mineralizable, carbono orgánico soluble y biodiversidad funcional de las comunidades microbianas del suelo mediante la determinación de los perfiles metabólicos de utilización de sustratos de carbono (placas EcoBiolog para bacterias y placas BiologFF para hongos).

15 muestras de suelo muestreadas el 12-08-2013 – Al finalizar el cultivo de la campaña 2012-13 (antes de realizar las biosolarizaciones de 2013). Entre septiembre y diciembre de 2013 se han analizado: actividades enzimáticas (ureasa, beta-glucosidasa, fosfatasa acida y alcalina, arilsulfatasa y deshidrogenasa), respiración basal, carbono de la biomasa microbiana, nitrógeno potencialmente mineralizable, carbono orgánico soluble y biodiversidad funcional de las comunidades microbianas del suelo mediante la determinación de los perfiles metabólicos de utilización de sustratos de carbono (placas EcoBiolog para bacterias y placas BiologFF para hongos). Las 15 muestras proceden de las parcelas elementales del ensayo en bloques completos al azar con 5 tratamientos (3 réplicas por tratamiento) del invernadero experimental CH del IMIDA en el que en dos fechas diferentes (agosto y octubre) se han ensayado dos enmiendas: torta de colza 000 (sin ácido erúcico y sin glucosinolatos) y bagazo de cerveza +

estiércol fresco de ovino (50:50), además de un testigo no desinfectado como tratamiento de referencia.

Objetivo 2.3. Determinar en condiciones de invernadero en el País vasco el efecto de la biosolarización en verano y otoño con alguna enmienda orgánica en la inactivación de las oosporas de *P. capsici* / *P. cryptogea*, así como el efecto en las propiedades físico-químicas y biológicas del suelo y en la producción y enfermedad en el cultivo de pimiento.

Ensayos con cultivos de pimiento en el invernadero experimental de NEIKER en Vizcaya

En un invernadero túnel (40 * 9 m²) ubicado en la finca experimental que NEIKER posee en su centro de Derio (Vizcaya), en el presente proyecto se ha previsto ensayar dos épocas de biosolarización diferentes (agosto-septiembre tercer año y marzo-abril en cuarto año) que corresponden al tercer y cuarto año de experimentación (resultados de primer y segundo años mostrados en anterior proyecto INIA RTA-2008-00058-C03). Cada una tendrá una duración próxima a las 6 semanas (42 días). Los diferentes tratamientos evaluados en el ensayo se repetirán en el tiempo 2 veces consecutivas sobre las mismas parcelas del invernadero del ensayo para evaluar el efecto que ejerce la reiteración de la biosolarización al emplear las mismas enmiendas orgánicas sobre diversas propiedades que definen la fertilidad y la salud del suelo.

La eficacia de la biosolarización en agosto tercer año se evaluó mediante un tercer cultivo de pimiento en el que se registró la incidencia de enfermedad por *P. capsici* y la productividad. Además se midió el efecto sobre la viabilidad mediante plasmolisis y la infectividad de las oosporas del patógeno mediante un bioensayo con plantas de pimiento.

Solamente en el caso de las parcelas del ensayo del invernadero experimental de NEIKER que fueron tratadas con pellets de *Brassica carinata* en agosto-septiembre tercer año, se volvió a biosolarizar en febrero del año siguiente con *Sinapis alba* enterrada en verde para ver si este refuerzo podría mejorar la eficacia sobre la incidencia de enfermedad de *P. capsici* en el cultivo.

Las parcelas experimentales fueron infestadas artificialmente (después de incorporar la enmienda orgánica en la capa arable de 25 cm y antes de regar y colocar el plástico de sellado) enterrando residuos (cepellón de raíces y parte basal del tallo) de plántulas de pimiento enfermas previamente inoculadas con micelio, esporangios, zoosporas y oosporas de una mezcla de cinco cepas distintas de *P. capsici* (tres cepas A1 procedentes de cultivos de pimiento de Vizcaya: 02/206, 00/004 y 06-13-03; y dos cepas A2 compradas a la Centraalbureau voor Schimmelcultures (Holanda): CBS 370.72 y CBS 111336). Los tratamientos se dispusieron según un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones y un tamaño de parcela elemental de 6 x 4.7 m. Los residuos de plántulas infectadas se enterraron a unos 10 cm de profundidad coincidiendo con la futura ubicación de las dos filas centrales de las cuatro filas de cultivo que constituirían cada parcela elemental.

En las enmiendas orgánicas de origen animal (estiércol fresco y estiércol semicompostado) que se aplicaron en la tercera biosolarización (agosto-septiembre tercer año) y las que se aplicaron en la cuarta biosolarización (marzo-abril cuarto año) hubo reducción de dosis del 20 y 25% respectivamente en relación a la dosis aplicada en la primera biosolarización (marzo-abril primer año). Como el contenido de humedad de las enmiendas de origen animal (estiércoles y gallinaza) podía variar en los lotes que se emplearon en las diferentes biosolarizaciones, se adoptó el criterio de aportar la misma cantidad de materia seca de enmienda de origen animal y el criterio de no superar el límite económico y práctico de manejo de más de 10 kg/m² de materia fresca (100 toneladas/ha). Para el total de las enmiendas orgánicas de origen animal (estiércol fresco y estiércol semicompostado) aplicadas en cada tratamiento se aportaron 5,140 kg/m² de materia seca en la primera biosolarización de marzo-abril primer año y 1,041 kg/m² (criterio reducción de dosis del 20%) de materia seca en la tercera biosolarización de agosto-septiembre tercer año y 1,289 kg/m² (criterio reducción de dosis del 25%) de materia seca en la cuarta biosolarización de marzo-abril cuarto año. Las anteriores cantidades se determinaron para cumplir el criterio de que las dosis de materia seca de enmienda supusieran un aporte de

170 kg/ha de N mineralizado en el primer año tras la incorporación de la enmienda (340 kg/ha de N total, porque suponemos que en el primer año se mineraliza el 50%).

Ensayo cuarta Biosolarización (marzo-abril cuarto año). Cultivo 4 (segunda anualidad RTA2011-00005-C03-03)

El objetivo del cuarto ensayo fue evaluar la eficacia de la biosolarización cuando se aplica en marzo-abril, época desfavorable a la solarización al ser baja la radiación solar y la temperatura en el suelo pero compatible con el ciclo del cultivo de pimiento en invernadero en suelo sin calefacción en el País Vasco que se transplanta a principios de abril. Se pretendía además comparar resultados con los obtenidos en la primera biosolarización de marzo-abril del primer año al reducir la dosis hasta un 25% en los tratamientos de enmiendas orgánicas de origen animal (estiércol fresco y estiércol semicompostado) y al aumentar la eficacia del tratamiento de pellets de *Brassica carinata* mediante adición de una materia orgánica rápidamente descomponible y rica en nitrógeno (torta de colza de la variedad Tocatta (Koipesol), variedad doble cero sin ácido erúcico y sin glucosinolatos). El ensayo comenzó a finales de marzo y durante el mismo se determinó el efecto de la reiteración de la biosolarización con las mismas enmiendas sobre las mismas parcelas del invernadero en las variables analizadas durante los ensayos de la primera, segunda y tercera biosolarizaciones de los años previos.

Los cinco diferentes tratamientos evaluados en el cuarto ensayo de biosolarización de marzo-abril del cuarto año fueron los siguientes: 1. Biosolarización con Estiércol fresco de oveja a 2,242 kg/m² + Gallinaza semiseca a 0,325 kg/m² (EFO + G) ($1,029 + 0,257 = 1,286$ kg/m² de materia seca); 2. Biosolarización con Estiércol semicompostado a 2,937 kg/m² (mezcla de Caballo + Restos Soja) (CAB + G) (1,286 kg/m² de materia seca); 3. Biosolarización con Pellets de *Brassica carinata* (BIOFENCE) a 0,3 kg/m² + Torta semilla *Brassica napus* a 1,0 kg/m² (0,817 kg/m² de materia seca); 4. Testigo sin plástico; 5. Testigo con plástico. Datos sobre la tercera biosolarización: Inicio biosolarización: 24-marzo. Duración biosolarización: 43 días. Riego previo a la biosolarización de 25 L/m² aplicado por aspersión. Plástico transparente (PE 200 galgas). Este cuarto ensayo de biosolarización realizado en marzo-abril cuarto año se evaluó en ese mismo año con un cultivo de pimiento de mayo a noviembre (cultivo 4).

Registro en continuo de la temperatura del suelo a diferentes profundidades en suelo de invernadero solarizado y desnudo

Se instaló un datalogger y sondas de temperatura de suelo y ambiente dentro de un invernadero túnel (40 * 9 m²) ubicado en la finca experimental que Neiker posee en su centro de Derio (Vizcaya) para el registro en continuo (cada 15 minutos) de la temperatura del suelo durante un periodo próximo a las 6 semanas en la época ensayada: marzo-abril cuarto año. Las sondas se colocaron a diferentes profundidades (15 y 30 cm) en los cinco diferentes tratamientos evaluados en el ensayo: suelo solarizado (acolchado con plástico de polietileno transparente de 200 galgas), biosolarizado (solarizado y enmendado) con tres enmiendas orgánicas diferentes (mezcla de estiércol fresco de oveja y gallinaza semiseca, mezcla de estiércol semicompostado de caballo y gallinaza (tercer año) ó soja (cuarto año) y pellets de harina desgrasada de *Brassica carinata* (tercer año) ó *Brassica carinata* + *Brassica napus* (cuarto año) y en suelo desnudo (sin plástico).

Bioindicadores salud del suelo en Vizcaya

En los ensayos del invernadero experimental de NEIKER en Vizcaya se tiene previsto realizar cuatro biosolarizaciones en cuatro épocas diferentes: marzo año 1, septiembre año 1 (la primera y segunda anualidad en anterior proyecto RTA-2008-00058-C03), agosto año 3 y marzo año 4 (la tercera y cuarta anualidad en presente proyecto RTA11) (exceptuando la biosolarización de febrero año 2 (en anterior proyecto RTA08) y de febrero año 3 (en presente proyecto RTA11) con *Sinapis alba* en verde que solamente se aplicaron como refuerzo a las parcelas tratadas previamente con pellets de *Brassica carinata*).

Se han realizado análisis de parámetros bioindicadores que permiten definir la salud del suelo (biomasa, actividad y biodiversidad de las comunidades microbianas) en los ensayos del

invernadero experimental de NEIKER en Vizcaya en el que se han realizado biosolarizaciones en dos épocas diferentes: agosto año 3 y marzo año 4, (exceptuando la biosolarización de febrero año 3 con *Sinapis alba* en verde que solamente se aplicó como refuerzo a las parcelas tratadas previamente con pellets de *Brassica carinata*) en las siguientes muestras de suelo:

- 15 muestras de suelo- Tras la biosolarización de agosto año 3
- 6 muestras de suelo- Antes de la biosolarización con *Sinapis alba* de Febrero año 3
- 15 muestras de suelo- Tras la biosolarización con *Sinapis alba* de Febrero año 3 y antes del cultivo año 3 (cultivo 3).
- 15 muestras de suelo- Al finalizar el cultivo año 3 (cultivo 3)
- 15 muestras de suelo- Tras la biosolarización de marzo año 4 y antes del cultivo año 4 (cultivo 4).

Se han analizando poblaciones de distintos microorganismos mediante recuentos de unidades formadoras de colonias (UFCs) en diferentes medios de cultivo (TSA-bacterias, PDA-hongos, KINGB-Pseudomonas, AIA-Actinomicetos y ENDO-Bacterias entéricas).

Tras la reiteración de tratamientos de biosolarización durante cuatro ciclos de cultivo con diferentes enmiendas orgánicas y después de la cuarta biosolarización (principio del cultivo 4) se ha podido observar que la concentración de nitrógeno potencialmente mineralizable fue significativamente mayor en las parcelas enmendadas con *B. carinata* + *B. napus* que en los restantes tratamientos, explicándose por el mayor aporte de nitrógeno en esta enmienda. El NPM es indicador del nitrógeno biológicamente activo en el suelo, en forma de amonio (NH_4^+). Este hecho podría justificar que en estas parcelas haya aumentado la eficacia desinfectante del inóculo en el suelo que inicia la enfermedad en el cultivo. La mayor actividad biológica se apreció en el tratamiento con *B. carinata* + *B. napus* que mostró contenidos significativamente superiores a los restantes tratamientos para el nitrógeno potencialmente mineralizable (nitrógeno biológicamente activo en el suelo) y la actividad deshidrogenasa (actividad oxidativa intracelular de la totalidad de la microflora del suelo). El estiércol fresco y *B. carinata* + *B. napus* fueron los dos tratamientos con contenido significativamente superiores para la beta-glucosidasa (ciclo del carbono) y fosfatases ácida y alcalina (ciclo del fósforo). La baja actividad ureasa del tratamiento con *B. carinata* + *B. napus* podría explicarse bien por toxicidad sobre la microflora por exceso de amoniaco o bien por inhibición por exceso de producto.

Variables químicas de la fertilidad del suelo en Vizcaya

Tras la reiteración de tratamientos de biosolarización durante cuatro ciclos de cultivo con diferentes enmiendas orgánicas y después de la cuarta biosolarización (principio del cultivo 4) se ha podido observar que la aplicación de estiércoles (fresco y semicompostado) o brasicas (*B. carinata* + *B. napus*), no afectó de forma significativa al contenido de materia orgánica total, ni al nitrógeno total. Si que se apreció un incremento de algunos nutrientes, sobretodo en las parcelas enmendadas con estiércoles animales, en las que hubo un aumento de fósforo asimilable por las plantas, boro, zinc y cobre. Este aumento puede relacionarse con la aportación de estos elementos como nutrientes en los piensos suministrados al ganado. En el tratamiento de *B. carinata* + *B. napus* también se apreció un incremento de algunos nutrientes como el hierro asimilable o el manganeso. Los tratamientos con enmiendas presentaron un incremento en el porcentaje de saturación de bases respecto a los tratamientos sin enmienda (testigo no desinfectado y solarización). En síntesis, la aplicación de enmiendas, bien estiércoles de origen animal (estiércol fresco y estiércol semicompostado) o brasicas (*B. carinata* y *B. napus*), ejercieron un efecto de mejora en la variables químicas que definen a la fertilidad del suelo.

Efecto de la biofumigación y la biosolarización en la inactivación de las oosporas de *P. capsici* en condiciones de invernaderos en el País vasco. Producción, análisis de viabilidad e infectividad

Efecto en viabilidad e infectividad de las oosporas de *P. capsici* de la biofumigación y la biosolarización en condiciones de invernadero en Vizcaya en año 4 (segunda anualidad RTA2011-00005-C03-03)

La cuarta biosolarización realizada en marzo-abril de año 4 en Vizcaya, redujo a un 48-43% la viabilidad inicial de las esporas de resistencia de *P. capsici* en las parcelas biosolarizadas con estiércoles fresco y semicompostado a 15 cm de profundidad respectivamente y un 41-44% a 30 cm de profundidad. En el testigo no desinfectado (suelo sin plástico), solarizado (suelo con plástico sin enmienda) y biosolarizado con pellets de *Brassica carinata* + torta semilla de *Brassica napus*, la viabilidad se redujo a un 46-49-16% de su valor inicial a 15 cm de profundidad y a un 55-47-20% a 30 cm de profundidad respectivamente (valores de viabilidad determinados mediante la técnica de plasmósis de Jiang y Erwin (1990)).

La infectividad de las oosporas, expresada por el porcentaje de mortalidad de plántulas de pimiento en el bioensayo en condiciones ambientales controladas siguiendo la metodología de Bowers y Mitchell (1991), fue del 100-89-100-100-100% a 15 cm de profundidad y 100-100-100-100-98% a 30 cm de profundidad para suelo biosolarizado con estiércol fresco, biosolarizado con estiércol semicompostado, testigo no desinfectado (suelo sin plástico), solarizado (suelo con plástico sin enmienda) y biosolarizado con pellets de *Brassica carinata* + torta semilla de *Brassica napus* respectivamente.

La mayor eficacia de la tercera bipolarización de agosto-septiembre respecto las tres restantes bipolarizaciones (marzo-abril año 1, septiembre-octubre año 1 y marzo-abril año 4) en la reducción de infectividad de las oosporas parece relacionada con la mayor temperatura alcanzada en el suelo. La temperatura registrada a 15 cm de profundidad en el suelo biosolarizado con estiércol fresco en marzo-abril de año 1 fue: 832 horas a 12.5-25°C, 134 h a 25-30°C y 10 h a 30-32.5°C; en septiembre-octubre de año 1 fue: 556 horas a 12.5-25°C, 523 h a 25-30°C y 11 h a 30-32.5°C; en agosto-septiembre de año 3 fue 95 horas a 12.5-25°C, 397 h a 25-30°C, 262 h a 30-32.5°C, 175 horas a 32.5-35°C, 97 h a 35-37.5°C, 60 h a 37.5-40°C, 48 h a 40-42.5°C, 18 h a 42.5-45°C y 1.3 h a 45-47.5°C; y en marzo-abril de año 4 fue: 8 horas a 10-12.5°C, 394 horas a 12.5-25°C, 362 h a 25-30°C, 109 h a 30-32.5°C, 88 horas a 32.5-35°C, 62 h a 35-37.5°C y 10 h a 37.5-40°C.

Los resultados de la tercera biosolarización de agosto-septiembre de año 3 contrastan con la primera biosolarización de marzo-abril año 1, con la segunda biosolarización de septiembre-octubre año 1 y con la cuarta biosolarización de marzo-abril año 4. En las parcelas biosolarizadas con estiércoles (fresco y semicompostado) en marzo-abril año 1, en septiembre-octubre año 1 y en marzo-abril año 4, la viabilidad de las oosporas sólo se redujo a un 61-59-48 y a un 59-82-43% respectivamente de su valor inicial a 15 cm de profundidad y a un 77-66-41 y a un 70-87-44% a 30 cm de profundidad, aunque continuaron mostrándose infectivas causando un 100% de mortalidad de las plantas de pimiento a las fuertes dosis de inóculo empleadas en el bioensayo de infectividad (10.000 oosporas por planta en 100 ml de suelo). La tercera biosolarización en agosto-septiembre de año 3 fue la única época de las tres ensayadas en la que se apreció una reducción significativa de la infectividad de las oosporas en los estiércoles fresco y semicompostado a 15 cm de profundidad (8-50% de plantas muertas), aunque se observó disminución de eficacia a 30 cm de profundidad (83-67% de plantas muertas).

Durante el proceso de solarización (marzo-abril año 4), se produjo un aumento de la temperatura (2-4°C) en el suelo de las parcelas solarizadas en relación a las parcelas desnudas del testigo sin desinfectar. No hubo diferencias en la temperatura media diaria alcanzada entre los diferentes tratamientos cubiertos con plástico, por lo que no fue la temperatura la responsable de la disminución en la supervivencia de las oosporas de *P. capsici* en las parcelas biosolarizadas con *Brassica carinata* + *Brassica napus*, ya que éstas estuvieron expuestas a la misma temperatura que el resto de tratamientos cubiertos con plástico en los que la viabilidad de las oosporas del patógeno no difirió de la que presentaba la parcela testigo sin plástico.

La temperatura media horaria del suelo a 15 cm de profundidad durante todo el periodo de la cuarta biosolarización (marzo-abril año 4) fluctuó entre 12 y 18°C en todos los tratamientos y entre 13 y 16°C a 30 cm de profundidad. En el día más cálido registrado durante la

bidesinfección se observaron diferencias de hasta 11°C entre el testigo y los tratamientos sellados con plástico a 15 cm de profundidad. Esa diferencia se redujo a sólo 5°C a 30 cm de profundidad. Se observaron diferencias de 6-9°C entre el testigo y el suelo sellado con plástico a 15 cm de profundidad para los valores medios diarios y de 4-7°C a 30 cm de profundidad. Los valores más bajos de las mínimas diarias se registraron a 15 cm de profundidad, siendo 2°C menor que a 30 cm de profundidad por el efecto de amortiguación de la profundidad. La temperatura máxima alcanzada durante la cuarta biosolarización (marzo-abril año 4) fue de 40 °C, y en día más cálido durante un tiempo de 2 horas, combinación de temperatura y tiempo de exposición insuficientes para conseguir la inactivación de las oosporas del patógeno.

Las temperaturas obtenidas en el ensayo de la cuarta biosolarización (marzo-abril año 4) en todos los tratamientos fueron insuficientes para alcanzar la inactivación térmica de las oosporas, ya que como demuestran Etxeberria et al. (2011), se requieren 114 horas acumuladas por encima de 40°C en un régimen fluctuante (4 horas a 40°C y 20 horas 25°C) para matar al 100% de las oosporas de *P. capsici* en un suelo húmedo estéril en condiciones controladas de laboratorio. De la misma manera, el número de 1579 horas acumuladas estimado en el otro régimen fluctuante ensayado (5 horas a 35°C y 19 horas a 30°C) por los anteriores autores para matar al 100% de las oosporas, tampoco se alcanzó en el presente ensayo.

Resaltar que la adicción de torta de semilla de *Brassica napus* (colza doble cero sin ácido erúcico ni glucosinolatos) a los pellets de *Brassica carinata* en la cuarta biosolarización realizada en marzo-abril de año 4 con temperatura más baja (76 horas a más de 35°C y 0 horas a más de 40°C a 15 cm de profundidad) aumentó el poder desinfectante, superando incluso en eficacia a las mejores enmiendas (estiércoles fresco y semicompostado) de la tercera biosolarización de agosto-septiembre de año 3 con temperatura más elevada (224 horas a más de 35°C y 67 horas a más de 40°C a 15 cm) por una ligera diferencia a 15 cm de profundidad (16% en *B. carinata* + *B. napus* versus 21-23% del valor inicial de la viabilidad de las oosporas en estiércol fresco y semicompostado) y por una amplia diferencia a 30 cm de profundidad (20% versus 64-60% del valor inicial de viabilidad).

No hubo paralelismo entre la viabilidad determinada mediante plasmólisis y la infectividad mediante biensayo en la cuarta biosolarización, posiblemente por la alta dosis de inóculo empleada en el bioensayo de infectividad. Sin embargo, si se mantuvo un paralelismo en la eficacia entre la variable viabilidad de oosporas determinada mediante plasmólisis y la variable porcentaje de cepellones infectados enterrados de plantas de pimiento a 15 cm de profundidad con resultado positivo a *P. capsici* tras finalizar el periodo de la cuarta biosolarización (93, 67, 77, 43 y 13% para suelo testigo no desinfectado, solarizado y biosolarizado con estiércol fresco, con estiércol semicompostado y con *B. carinata* + *B. napus*). Observar que el valor medio del 13% del tratamiento *B. carinata* + *B. napus* se obtuvo a partir de la media de tres parcelas repetición situadas en los bloques 1, 2 y 3 cuyos valores fueron 0, 0 y 40% respectivamente, coincidiendo el peor resultado con la parcela del bloque 3 situada junto a la puerta del invernadero en la que el plástico de sellado no hizo buen contacto con la superficie del suelo por un alisado insuficiente por falta de temporo que impidió el rastrillado adecuado necesario previo a la colocación del plástico.

También se mantuvo un paralelismo en la eficacia entre la variable viabilidad de oosporas determinada mediante plasmólisis y la variable porcentaje de superficie de parcela cubierta de hierbas tras finalizar el periodo de la cuarta biosolarización (100, 43, 25, 26 y 12% para suelo testigo no desinfectado, solarizado y biosolarizado con estiércol fresco, con estiércol semicompostado y con *B. carinata* + *B. napus*). Observar que el valor medio del 12% del tratamiento *B. carinata* + *B. napus* se obtuvo a partir de la media de tres parcelas repetición situadas en los bloques 1, 2 y 3 cuyos valores fueron 2, 0 y 35% respectivamente, coincidiendo el peor resultado con la parcela del bloque 3 situada junto a la puerta del invernadero por la misma causa que se explicó anteriormente.

En contraposición con las tres primeras biosolarizaciones (marzo-abril año 1, septiembre-octubre año 1 y agosto-septiembre año 3) en las que los estiércoles fresco y semicompostado fueron las enmiendas más eficaces en reducir la supervivencia del patógeno (viabilidad e infectividad de las oosporas y presencia en raíces infectadas-cepellones) y en las que *B.*

carinata resultó insuficiente, en la cuarta biosolarización de marzo-abril año 4, la enmienda más eficaz fue *B. carinata + B. napus* (evaluada por su viabilidad y presencia en raíces infectadas-cepellones y sin diferencias para la variable infectividad), incluso a pesar de que la temperatura fue menor que la de la tercera biosolarización de agosto-septiembre año 3.

En la cuarta biosolarización de marzo-abril año 4, el contenido de materia seca aportado al suelo por cada una de las tres enmiendas fue próximo entre si (1,286 kg/m² en los estiércoles y 1,117 en *B. carinata + B. napus*). Por el contrario, el contenido aportado de nitrógeno fue muy superior en las brasicas (520 kg/ha) con respecto al estiércol fresco (321 kg/ha) y el estiércol semicompostado (152 kg/ha). Lo que se ha pretendido conseguir aplicando torta de colza (*B. napus*) es que haya un incremento de la actividad microbiana y que se creen bajo el plástico atmósferas con niveles muy bajos de oxígeno, condiciones favorables para que se produzcan compuestos tóxicos para el patógeno como pueden ser ciertos ácidos grasos volátiles (ac. butírico, ac. propiónico,...). Frente a la podredumbre radicular y del cuello del tomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, patógeno termotolerante para el que la solarización por si sola no resultó eficaz (45% de plantas enfermas), se observó que cuando se combinó con el aporte de harina de semilla de colza aumentó la eficacia (20% de plantas enfermas) igualando la efectividad del bromuro de metilo (Sivan y Chet, 1993).

La aplicación de enmiendas orgánicas junto con el efecto de la solarización, posibilita el control de *Phytophthora capsici* a temperaturas menores, es decir, no requiere temperaturas elevadas (superiores a 40°C) para que el control sea adecuado. Son los gases que se crean en el proceso de biodescomposición de la materia orgánica aplicada los responsables de este control. La acumulación de amoniaco (NH₃) es el mecanismo más usualmente implicado en la mortalidad de los patógenos de los suelos tratados con enmiendas orgánicas nitrogenadas (Tenuta et al., 2002, Tsao et al., 1981), siendo los compuestos orgánicos con una baja relación C/N los más efectivos en el control de diferentes especies de patógenos. Es el caso de la torta de colza (*B. napus*), al igual que otras oleaginosas contiene una relación C/N muy baja, es un aporte proteico muy potente para el suelo, por lo que uno de sus efectos podría explicarse por la generación de amoniaco. Por otra parte, es una materia orgánica muy rápidamente degradable por la microflora, por lo que otro efecto podría explicarse a través de la creación de condiciones de anaerobiosis. En ensayos anteriores de biosolarización, en las parcelas de brasicas solo se aplicaron pellets de *Brassica carinata* (Biofence) a 0,3 kg/m², los cuales no tuvieron un buen efecto en la disminución de la supervivencia de las oosporas. Por tanto se podría decir que en este ensayo con la incorporación de torta de colza a una dosis elevada (1 kg/m²) se han conseguido los objetivos que se perseguían (explicados anteriormente). Recordar que el mecanismo de acción es diferente en ambos tipos de brasicas; en *B. carinata* mediante la síntesis de isotiocianatos a partir del glucosinolato sinigrina; en *B. napus* (variedad Tocatta doble cero; sin ácido erúcico ni glucosinolatos) mediante la generación de condiciones de anaerobiosis al producirse su degradación microbiana y/o la producción de amoniaco.

Producción, vigor y enfermedad en el cultivo de pimiento en Vizcaya (cultivo 4)

La incidencia de enfermedad durante el cultivo, expresada como porcentaje de plantas muertas por *P. capsici*, no mostró diferencias significativas entre las parcelas biodesinfectadas y el testigo sin tratar, oscilando entre el 7,5% (*B. carinata + B. napus*) y el 26% (Testigo no desinfectado). El aumento de temperatura en las parcelas con plástico sin enmienda (suelo solarizado) fue insuficiente para inactivar el inóculo en el suelo de *P. capsici* y no logró disminuir la incidencia de la enfermedad respecto al testigo sin desinfectar. Este hecho unido a la presencia del plástico, que impedía la evaporación, hizo que se mantuvieran las condiciones de humedad en el suelo lo que favoreció la supervivencia del inóculo. El crecimiento y vigor de las plantas, estimado a través de la altura de las mismas, fue significativamente superior en las parcelas biosolarizadas con estiércol semicompostado respecto al testigo. Los restantes tratamientos no presentaron diferencias significativas respecto al Testigo. En cuanto a la producción, hubo diferencias significativas en el número de docenas totales y en el número de Kg/m². Las medias difirieron significativamente al comparar el testigo con los restantes tratamientos, y también al comparar los estiércoles respecto a las brasicas (*B. carinata + B. napus*), siendo este último el que presentó mayor producción total final. Es importante destacar que en las parcelas enmendadas con pellets de brasicas, la producción superó los límites

considerados óptimos por los agricultores de 25 docenas/m² para un ciclo de cultivo de seis meses de duración. Esto puede deberse a que los frutos se recolectaron en las filas centrales, y estas presentaron baja incidencias de enfermedad en los tratamientos de brasicas. En las brasicas se recolectaron 36,8±1.1 docenas/m² (la significación del modelo fue p= 0,11 y la significación del tratamiento fue p=0,09) y 5,8±0.2 Kg/m² (la significación del modelo fue p= 0,29 y significación del tratamiento p=0,16). Estas variables rozaron la significación, pero debido a la gran variabilidad que hubo entre bloques, las diferencias fueron no significativas.

El tratamiento de brasicas (*B. carinata* + *B. napus*) presentó la menor incidencia de enfermedad en el cultivo aunque sin diferir significativamente de los restantes tratamientos y la mayor producción comercial de frutos rozando la significación. En cuanto al vigor (altura de las plantas), todos los tratamientos con plástico no difirieron significativamente entre si y sólo el estiércol semicompostado difirió significativamente del testigo. A estos efectos contribuyeron las modificaciones en la composición físico-química y biológica del suelo que disminuyeron el efecto del patógeno sobre el cultivo. La aplicación de enmiendas orgánicas aumenta la supresividad del suelo según varios autores. Un suelo supresivo es aquel en el que la severidad e incidencia de la enfermedad permanece baja, a pesar de la presencia del patógeno, de la planta hospedadora y de las condiciones ambientales necesarias para el desarrollo de la enfermedad. Este efecto es debido a diferentes mecanismos que se han propuesto: el aumento de la actividad microbiana antagonista sobre los microorganismos patógenos, el incremento de la competitividad entre microorganismos por los nutrientes o la producción de compuestos tóxicos procedentes de la descomposición de la propia materia orgánica.

A modo de resumen final pueden enumerarse las siguientes conclusiones:

1. El tratamiento de brasicas presentó la mayor eficacia desinfectante sobre la supervivencia del patógeno, tanto sobre la viabilidad de las oosporas como en la desinfección de cepellones de plantas de pimiento infectados con una mezcla de propágulos (micelio, esporangios, zoosporas, oosporas). Esta toxicidad concordó con el efecto herbicida al finalizar el período de bidesinfección. La toxicidad, a la vista de los resultados desfavorables obtenidos en experimentos anteriores utilizando únicamente pellets de *Brassica carinata* (Biofence), indican que el responsable del efecto es debido a los pellets de *B. napus* (torta de colza)
2. Ninguno de los tratamientos de bidesinfección realizados en marzo-abril lograron la inactivación térmica de las oosporas, consideradas el propágulo más resistente de patógeno.
3. La bidesinfección con torta de colza, provocó una drástica disminución en la concentración de oxígeno en el suelo durante todo el período que duró la bidesinfección. La posible generación de compuestos volátiles tóxicos como el amoniaco (baja relación carbono/nitrógeno) y otros compuestos generados durante las condiciones de anaerobiosis transitoria, podrían explicar su eficacia desinfectante y herbicida.
4. El tratamiento de brasicas presentó la menor incidencia de enfermedad en el cultivo aunque sin diferir significativamente de los restantes tratamientos y la mayor producción comercial de frutos rozando la significación.
5. La bidesinfección con brasicas presentó la mayor actividad biológica difiriendo significativamente de los restantes tratamientos exceptuando la bidesinfección con estiércol fresco.

Objetivo 5. Estudio de las condiciones que desencadenan la incidencia de la enfermedad producida por *Phytophthora parasitica* en los invernaderos de Murcia y por *Phytophthora cryptogea* en los invernaderos del País Vasco.

- Efecto del nivel de humedad radicular en patogeneicidad de *P. cryptogea*.

En Neiker, se han obtenido varios aislados de *P. cryptogea* de cultivos de pimiento y tomate y aguas de riego del País Vasco a lo largo de los años 2011 y 2012. Se extrajo el DNA, mediante PCR se amplificó la región ITS (Internal Transcribed Spacer) ribosomal utilizando los primers ITS4 e ITS5, se secuenciaron los productos de PCR que presentaban la característica banda de tamaño comprendido entre 850 y 900 pares de bases, y se compararon con secuencias conocidas en la base de datos Genebank mediante los programas informáticos

Chromas y Bioedit para un total de 79 aislados (17 de aguas de riego del País Vasco, 7 *P.cryptogea* de pimiento del País Vasco, 1 *P.cryptogea* de tomate del País Vasco, 1 *P.cryptogea* de tomate de Cantabria, 9 *P.capsici* de pimiento del País Vasco, 1 *P.capsici* de pimiento de Francia, 1 *P.capsici* de pimiento de Galicia, 1 *P.capsici* de tomate del País Vasco, 2 *P.parasitica* de tomate del País Vasco, 1 *P.parasitica* de pimiento de Galicia, 3 *P.capsici* de pimiento de Murcia, 28 *P.parasitica* de pimiento de Murcia y 7 aislados de referencia de micotecas [3 *P.parasitica*, 2 *P.capsici* y 2 *P.cryptogea*]). De este modo se ha confirmado molecularmente la identificación previamente realizada mediante criterios morfológicos y fisiológicos (crecimiento micelial a distintas temperaturas) de las tres especies de *Phytophthora*.

En el IMIDA durante el año 2012 se han inoculado seis aislados de pimiento de *P. cryptogea* sobre la variedad de pimiento "Derio", sensible a esta especie, mediante riego al sustrato-raíces con suspensión micelial, siendo los resultados de mortandad los que se muestran entre paréntesis (CÓDIGO CEPA = (nº plantas muertas / nº total de plantas inoculadas): 12212 = (7 / 10), NK02/12 = (7 / 10), 12172 = (0 / 10), NK01/12 = (5 / 10; de las 5 vivas restantes, 2 tenían lesiones en las raíces en las que se aisló el hongo), 2.3.2/11 = (10 / 10), 12.2.13/12 = (7 / 10; de las 3 vivas restantes, dos tenían lesiones en las raíces en las que se aisló el hongo)). De los anteriores ensayos se han seleccionado tres aislados de pimiento de *P. cryptogea* (12212, NK01/12 y 2.3.2/11) con diferente nivel de agresividad para proceder más adelante a utilizarlos en el ensayo con diferentes niveles de humedad radicular que se ha ejecutado en el IMIDA en el que también se han incluido aislados de pimiento de *P. parasitica* con diferente nivel de agresividad procedentes de Murcia.

Este ensayo se realizó en marzo-julio del 2013 en el IMIDA en condiciones controladas (20°C y fotoperiodo: 14:10 L/O en cámara de cultivo) estableciendo varios niveles de humedad (saturado, capacidad de campo y suelo seco) en macetas (1 L) mediante el ajuste del riego para mantener tres rangos de potencial matricial (0-10, 10-40 y ≥40 cb) del suelo que era medido en continuo mediante sondas de potencial matricial conectadas a un datalogger. Se observó que el carácter patógeno de *P.cryptogea* sobre pimiento se encontró muy influido por el contenido de humedad en el suelo, acrecentándose el porcentaje de plantas muertas a medida que aumentó el nivel de humedad del suelo (valores medios de los tres aislados por rango de 13 % en suelo seco, 27 % a capacidad de campo y 73% en suelo saturado).

- Patogeneicidad de aislados de *P. cryptogea* sobre diferentes variedades de pimiento.

Desde mayo del 2012, se ha evaluado la agresividad de cinco aislados de *P. cryptogea* del País Vasco (3 aislados de cultivos de pimiento y 2 aislados de las aguas de riego), dos aislados del agua de riego de *P.taxon salixsoil*, dos aislados del agua de riego de *P. gonapodyoides*, un aislado del agua de riego de *P.taxon gchlamydo* y tres aislados de *P. capsici* de cultivos de pimiento del País Vasco frente a la variedad de pimiento "Derio" de baja resistencia a *P. cryptogea* y *P. capsici* mediante los métodos de inoculación por decapitación y de riego al sustrato-raíces con suspensión micelial. Por decapitación se observó que los aislados de *P.capsici* eran los más patógenos, seguidos por los aislados de pimiento de *P.cryptogea* que a su vez fueron más patógenos que los aislados de *P.cryptogea* de las aguas de riego, y en último lugar los aislados de las aguas de riego de las otras tres especies (*P.taxon salixsoil*, *P. gonapodyoides* y *P.taxon gchlamydo*) que apenas resultaron patógenos. Por riego al sustrato-raíces con suspensión micelial únicamente se mostraron patógenos algunos aislados de pimiento de *P.capsici* y *P.cryptogea*, pero ninguno de los aislados de las aguas de riego de *P.cryptogea* ni de las otras tres especies (*P.taxon salixsoil*, *P. gonapodyoides* y *P.taxon gchlamydo*).

Se evaluó la resistencia de 36 variedades de pimiento (30 líneas de pimiento autóctono del País Vasco y 6 variedades testigo de resistencia conocida a *Phytophthora capsici*) con tres aislados de *Phytophthora cryptogea* (agresividad alta media y baja) mediante riego de la raíz con zoosporas. Este ensayo se llevó a cabo en condiciones controladas en una cámara de cultivo a la temperatura de 20°C.

Al analizar la progresión de la severidad de los síntomas aéreos de las 36 variedades de pimiento evaluadas frente al promedio de las 3 cepas de *P.cryptogea*, la mayor parte de las variedades de pimientos autóctonos vascos se mostraron significativamente más sensibles que el testigo sensible 'Yolo Wonder', con la excepción de 3 líneas del tipo Grueso de Asar (Isampa, Leuna,

Luzea) que mostraron el mismo nivel que Yolo Wonder mientras que todas ellas se mostraron significativamente más sensibles que 4 de las 5 variedades de referencia catalogadas como más resistentes ('SCM-334' y 'SCM-331', Smith-5 y Pi201234). Al analizar la necrosis del sistema radicular al finalizar el ensayo, las variedades catalogadas como resistentes se mostraron significativamente más resistentes que las 30 variedades de pimientos autóctonos vascos. Las variedades del tipo Cuerno Cabra ('NC-7' y 'NC-8') junto con las del tipo Grueso de Asar (Isampa, Leuna, Luzea) se mostraron como las más resistentes considerando los dos criterios de valoración (parte aérea y sistema radicular).

La inoculación de varias cepas del hongo *Phytophthora cryptogea* sobre un total de 30 líneas diferentes de pimientos autóctonos del País Vasco mostró la baja resistencia a las cepas más agresivas de la mayor parte de las líneas. Se observó variabilidad en el poder patógeno de las cepas prospectadas en las principales zonas de cultivo de la región cuando se inocularon sobre una misma variedad sensible de pimiento.

Objetivo 6. Estudio en condiciones in vitro del efecto de diferentes concentraciones y tiempos de exposición de amoniaco y ácido nitroso en la inactivación de las oosporas de *P. capsici* y *P. cryptogea*.

- Inactivación de las oosporas de *P. capsici*.

Se ha realizado un experimento que comenzó en septiembre 2011 analizando el efecto sobre la supervivencia de las oosporas de *P. capsici* mediante el método de plasmólisis con diferentes concentraciones y tiempos de exposición de amoniaco y ácido nitroso. En el experimento se evaluaron el efecto in vitro de diferentes concentraciones de HNO₂ (0, 2, 4, 6, 8 ppm) con tiempos de exposición (0, 4, 24, 48, 168 y 216 horas) y concentraciones de NH₃ (50, 100, 150, 200 y 300 ppm) con tiempos de exposición (0, 4, 24, 48, 72, 144, 216, 312 y 480 horas) sobre la viabilidad de las oosporas de *P. capsici*, determinada mediante el método de plasmólisis. La exposición durante 168 horas (7 días) con HNO₂ comenzó a mostrar un efecto en la reducción de viabilidad (48-28-18-16% viables para 2-4-6-8 ppm respectivamente) y para 216 horas (9 días) comenzó a ser letal (17-0.3-0-0% viables para 2-4-6-8 ppm respectivamente). El amoniaco fue menos letal que al HNO₂, ya que la exposición durante 312 horas (13 días) redujo la viabilidad de las oosporas a valores del 20% en el rango de concentraciones de 50-100-150 ppm de NH₃, al 10% a 200 ppm y al 1% a 300 ppm. La exposición durante 480 horas (20 días) redujo la viabilidad de las oosporas a valores del 10% en el rango de concentraciones de 50-100 ppm de NH₃ y al 1% a 300 ppm..

+ Otros resultados obtenidos (si es necesario)

Desde mayo 2012, se ha comenzado a rejuvenecer y ampliar la colección de aislados de *Phytophthora* en Neiker-Derio. Alumna de la UPV-Farmacia desde Mayo a Julio 2012 asociada a estas tareas

En enero 2013 se han obtenido 15 aislados de *Phytophthora* de las aguas de riego de 7 ríos de Bizkaia entre los que se han identificado morfológica y molecularmente la especie *P. cryptogea* y otras especies del mismo género (*P.gonapodyides*, Phyt. taxon salixsoil, Phyt. sp. taxon Pgchlamydo y *P.megasperma*).

Desde febrero a mayo 2014 se ha rejuvenecido la colección de aislados de *Phytophthora* en Neiker-Derio. Tres Alumnos de prácticas de Escuela FP química y Electrónica Indautxu/Jesuitas desde febrero a mayo 2014 asociados a esta tarea.

Se ejecuta ensayo Biosolarización-Injerto de marzo a octubre 2014 que se prevé justificar en posible próxima solicitud proyecto INIA RTA (RTA15-continuación BIOSOL), coincidiendo también con el interés de tratarse de prácticas agronómicas compatible con la Agricultura Ecológica, línea estratégica de interés para el Dpto de Agricultura del Gobierno Vasco que desea impulsar a partir de 2014.

Experiencias de BIOSOLARIZACIÓN que comienzan a implantarse para el manejo de enfermedades de suelo en CULTIVOS HORTÍCOLAS COMERCIALES DEL PAÍS VASCO

CONTROL DE *Meloidogyne* spp. Y *Verticillium dahliae* MEDIANTE BIOSOLARIZACIÓN EN INVERNADEROS COMERCIALES DEL PAÍS VASCO.

En varios invernaderos comerciales con enfermedades de suelo se aplicaron técnicas compatibles con la producción ecológica. El primero presentaba problemas persistentes de *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne hapla* en tomate en Hondarribia (Gipuzkoa). Se evaluaron: (i) enmienda en verde de *Raphanus sativus* (siembra 1 octubre 2011) combinada con estiércol fresco y plástico; (ii) estiércol fresco y plástico; y como control (iii) suelo sin enmienda y sin plástico de cobertura. Las enmiendas se incorporaron el 23-marzo-2012 y permanecieron durante 3 semanas antes del transplante, tanto con planta injertada como no injertada en cada una de las tres variantes. El efecto sobre la altura de las plantas a los 53 y 69 días después del transplante (DDT) no difirió entre los distintos tratamientos pero si los índices de agallamiento del nematodo en las raíces al finalizar el cultivo (146 DDT), que fueron más bajos en la combinación de enmiendas de *R. sativus* y estiércol respecto al tratamiento control (6% en planta no injertada y 29% para conjunto de planta no injertada e injertada) pero no en el caso de solo utilizar estiércol. Las mayores diferencias se dieron entre las plantas injertadas y las no injertadas, presentando un índice de agallamiento un 32% mayor las injertadas respecto las no injertadas. Este fenómeno de baja resistencia al nematodo se produjo desde el primer año de utilización del portainjertos de tomate. En un segundo invernadero con problemas crecientes de *Verticillium dahliae* en pimiento en Arakaldo (Bizkaia), la biosolarización empleando estiércol fresco con plástico desde 15-septiembre-2010 durante 70 días redujo la incidencia de un 25% a un 0.1%.

Agricultor en Gordexola aplica biodesinfección en agosto-2014 frente nematodo *Heterodera* en acelga. Los resultados se observarán en cultivos del 2015

Agricultor (Pedro Zubelzu) en Ibarra con problemas crecientes de hongos de suelo (*Phytophthora* sp. y *Verticillium dahliae*) en guindilla al aire libre comienza a probar a biofumigar con cultivos cover crops de dos especies de Brassicas que siembra en 2 ha de las 5 ha que cultiva en octubre 2014 para que vegeten durante el otoño-invierno con la intención de triturarlos en abril cuando estén en floración (con desbrozadota de pita) e incorporarlos a la capa arable para el cultivo 2015 de guindilla con transplante a mediados de mayo, seguido del acolchado con plástico negro o orsol encima de zona en la que se sitúan las filas de cultivo pareado (parte superior de caballones). Se mantiene reunión con técnicos de GILBE y DFG a mediados de marzo para intercambiar puntos de vista con la intención de solicitar un proyecto de I+D (Ekinberri) en la próxima convocatoria del 2015.

Informe técnico

Vínculo con Informe de la segunda anualidad del subproyecto Neiker del INIA RTA2011-00005-C03-03 (ubicación en red informática Neiker: [..\\2011\\nia_2011_Biosol\\Informe_2anualidad_RTA2011-00005-C03-03\\Informe_2anualidad_RTA2011-00005-C03-03.doc](#)

(*) La aceptación de la propuesta de financiación correspondiente al subproyecto NEIKER del INIA se firmó el 27-07-2011 en la que se indicó reducción de actividades por la reducción respecto al presupuesto solicitado. El 23-09-2011 se firmó y envío una carta al INIA en la que se concretó la reducción de las actividades del subproyecto NEIKER (ubicación en red informática Neiker: [Carta_23-09-2011_Reducción_de_actividades_subproyecto_Neiker_RTA2011-00005-C03-03_firmada.PDF](#)).

En el anterior proyecto INIA RTA08-058-C03-03 (estratégico CIPASAPI) se solicitó prorroga de finalización de diciembre 2011 a marzo 2012.

3. Información científica generada

+ Publicaciones Científicas Internacionales

Núñez-Zofío M., Larregla S., Garbisu C., Guerrero M.M., Lacasa C.M., Lacasa A. 2013. Application of sugar beet vinasse followed by solarization reduces the incidence of *Meloidogyne incognita* in pepper crops while improving soil quality. *Phytoparasitica*, 41, 181-191.

Larregla, S., Núñez-Zofío, M., Fernández-Molina, P., Martínez-Alarcón, V., Lacasa-Martinez, C.M., Guerrero-Díaz, M.M. 2014. Reduction of *Phytophthora capsici* oospores viability by gases released during soil biosolarization of protected pepper crops in Southeastern Spain. *Acta Horticulturae*, 1044: 113-118.

Larregla S., Guerrero M.M., Mendarte S., Lacasa A. (en prensa). Book chapter 23. Biodisinfestación con adiciones orgánicas para el control de la fatiga del suelo y los patógenos fitosabáticos en cultivos de pimiento protegido. Book title: Organic Amendments and Soil Suppressiveness. Springer Series Soil Biology. Editors Mukesh K Meghvansi and Ajit Varma (28-03-2015 aceptado, en prensa).

+ Publicaciones Científicas Nacionales

Larregla S, Ortíz-Barredo A, Arizmendi-Alaña J, Camino-Landaluce C, Diez-Gainza F. 2014. Control de *Meloidogyne* spp. y *Verticillium dahliae* mediante biosolarización en invernaderos comerciales del País Vasco. Actas del XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica

+ Comunicaciones a Congresos, Reuniones, Simposios

Autores: Larregla, S.

Título: Subproductos de industrias alimentarias como enmiendas: efecto sobre las características del suelo

Tipo de participación: Comunicación Oral

Congreso: VI Foro INIA de Colaboración Público Privada. Subproductos agroalimentarios: del residuo al coproducto.

Lugar de celebración: Madrid

Fecha: 7 de mayo de 2013

Autores: Núñez-Zofío M., Pérez E., Juaristi B., Garbisu C., Larregla, S.

Título: Supervivencia de *Phytophthora capsici* frente a la biofumigación invernal con mostaza blanca en invernadero en el País Vasco

Tipo de participación: Póster

Congreso: XIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas

Lugar de celebración: Roquetas de Mar (Almería) Fecha: 16 -20 de abril de 2012

Autores: Larregla S., Núñez-Zofío M., Pérez E., Guerrero M.M., Lacasa C.M., Martínez V., Ros C., Martínez M.A., Lacasa A.

Título: Supervivencia de *Phytophthora capsici* a distintos tratamientos de biosolarización en condiciones controladas de laboratorio

Tipo de participación: Comunicación oral

Congreso: XVI Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología

Publicación: Libro de Resúmenes. Página 178

Lugar de celebración: Málaga

Fecha: 17-21 de septiembre de 2012

Autores: Mijangos I., Garbisu C., Fernández M., Larregla S., González Oreja J.A., García M., Ortiz A.

Título: Método "parades en crestall": efectos sobre la salud del suelo

Tipo de participación: Póster

Congreso: X Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica

Lugar de celebración: Albacete Fecha: 26-29 de septiembre de 2012

Autores: Larregla, S., Núñez-Zofío, M., Fernández-Molina, P., Martínez-Alarcón, V., Lacasa-Martinez, C.M., Guerrero-Díaz, M.M.

Título: Reduction of *Phytophthora capsici* oospores viability by gases released during soil biosolarization of protected pepper crops in southeastern Spain.

Tipo de participación: Comunicación oral

Congreso: Eighth international symposium on chemical and non chemical soil and substrate disinfection (SD 2014)

Lugar de celebración: Torino (Italia) Fecha: 13-17 de julio de 2014

Autores: Lacasa C.M., Martínez V., Hernández A., Ros C., Guerrero M.M., Rodríguez-Molina M.C., Larregla S., Lacasa A., Guerrero M.M.

Título: Biosolarization with *Brassicaceae* green manures: effect on spores of *Phytophthora* spp. in protected pepper crops in Southeastern Spain.

Tipo de participación: Póster

Congreso: Eighth international symposium on chemical and non chemical soil and substrate disinfection (SD 2014)

Lugar de celebración: Torino (Italia) Fecha: 13-17 de julio de 2014

Autores: Larregla S, Núñez-Zofío M, Lacasa-Martínez CM, Martínez-Alarcón V, Fernández-Molina P, Guerrero-Díaz MM

Título: Volátiles liberados durante la biodesinfección y su efecto sobre *Phytophthora capsici* en condiciones de invernadero en Bizkaia.

Tipo de participación: Póster

Congreso: XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica

Lugar de celebración: Vitoria-Gasteiz Fecha: 1-4 de octubre de 2014

Autores: Larregla S, Ortíz-Barredo A, Arizmendi-Alaña J, Camino-Landaluce C, Diez-Gainza F

Título: Control de *Meloidogyne* spp. y *Verticillium dahliae* mediante biosolarización en invernaderos comerciales del País Vasco.

Tipo de participación: Póster

Congreso: XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica

Lugar de celebración: Vitoria-Gasteiz Fecha: 1-4 de octubre de 2014

Autores: Núñez-Zofío M, B Juaristi, A Ortíz-Barredo, S Larregla

Título: Biodesinfección en distintas épocas para el control de *Phytophthora capsici* en cultivo de pimiento en invernadero en el País Vasco.

Tipo de participación: Comunicación oral

Congreso: XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica

Lugar de celebración: Vitoria-Gasteiz Fecha: 1-4 de octubre de 2014

Autores: Lacasa-Martínez CM, Guerrrero-Díaz MM, Martínez-Alarcón V, Hernandez-Piñera A, Ros C, Larregla S, Rodríguez-Molina C

Título: Efecto de algunas brásicas como enmiendas de biosolarización sobre el inóculo de *Phytophthora* spp. en invernaderos del campo de Cartagena.

Tipo de participación: Comunicación oral

Congreso: XI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica

Lugar de celebración: Vitoria-Gasteiz Fecha: 1-4 de octubre de 2014

+ Artículos de Divulgación

+ Monografías

+ Informes Técnicos

Informes Técnicos GV (FPNC)

M:\SANTLARR\Neiker\PROYECTO\2012\SLA-BIOSOL-IAD12.doc

M:\SANTLARR\Neiker\PROYECTO\2013\SLA-BIOSOL-IAD13.doc

M:\SANTLARR\Neiker\PROYECTO\2014\SLA-BIOSOL-IFD14.doc

Informes Técnicos INIA (FPC)

Informe_1anualidad_RTA2011-00005-C03-03.doc. Ubicación:
M:\SANTLARR\Neiker\PROYECTO\2011\Inia 2011 Biosol\Informe 1anualidad
RTA2011-00005-C03-03

Informe_2anualidad_RTA2011-00005-C03-03.doc. Ubicación:
M:\SANTLARR\Neiker\PROYECTO\2011\Inia 2011 Biosol\Informe 2anualidad
RTA2011-00005-C03-03

4. Actividades de formación y transferencia realizadas

Tutor de Trabajo fin de grado en Ciencia y Tecnología Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco

Título Trabajo Investigación: Nuevas técnicas de desinfección de suelos: efecto sobre la productividad y calidad del pimiento

Tipo de trabajo: Trabajo fin de grado en Ciencia y Tecnología Alimentos

Alumno: Jon Alberdi Cedeño

Universidad: Universidad del País Vasco

Facultad / Escuela: Facultad de Farmacia

Tutor responsable en empresa: Santiago Larregla

Fecha: Mayo a Julio 2014

Calificación: Sobresaliente (9.0)

Tutor de Prácticas Tuteladas Licenciatura en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco

Título Trabajo Investigación: Estudio de la patogenicidad de aislados de *Phytophthora* spp. de los agrosistemas de pimiento de Vizcaya

Tipo de trabajo: Prácticas Tuteladas Licenciatura en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Alumno: Leyre Pescador Azofra

Universidad: Universidad del País Vasco

Facultad / Escuela: Facultad de Farmacia

Tutor responsable en empresa: Santiago Larregla

Fecha: Mayo a Julio 2013

Calificación: Sobresaliente (9.3)

Vídeo divulgativo sobre Biodesinfección en cultivo de pimiento

Fecha: 26-03-2013

Fecha de publicación: 31-05-2013

Duración: 3 minutos

Título del vídeo: NEIKER-Tecnalia: Biodesinfección y control de *Phytophthora* en pimiento .

Se adjunta vídeo divulgativo realizado en Neiker en el que se muestra invernadero del ensayo (fichero adjunto: NEIKER-Tecnalia_ biodesinfección y control de phytoptora en.flv)

Ubicación en internet:

<http://www.youtube.com/watch?v=KWGK7hxmFO4&list=UUPNV5XUcVAd5IMqmMKmwf6g>

Vídeo divulgativo sobre Cultivo y selección de pimiento choricero

Fecha de realización: 26-03-2013

Fecha de publicación: 31-05-2013

Duración: 4:22 minutos

Título del vídeo: NEIKER-Tecnalia: cultivo y selección de pimiento choricero .

Se adjunta vídeo divulgativo realizado en Neiker en el que se muestra invernadero del ensayo (fichero adjunto: NEIKER-Tecnalia_ biodesinfección y control de phytoptora en.flv)

Ubicación en internet: http://www.youtube.com/watch?v=tioOZ_mBtHc

Jornadas técnicas de difusión de resultados al sector productor de pimiento del País Vasco.

- Ciclo Formativo de Grado Medio “Técnico en Producción Agroecológica”. Escuela Agraria de Mendikoi Derio (Bizkaia). Clase de 3 horas de duración titulada: BIOSOLARIZACIÓN para el control de *Phytophthora* en pimiento en invernadero. (29 de enero de 2013, Derio, Vizcaya).
- CURSO DE ESPECIALIZACION EN GESTION INTEGRADA DE PLAGAS. Colegio Oficial de Ingenieros Agrónomos de Aragón, Navarra y País Vasco. PARTE ESPECÍFICA. Centrado en los cultivos NO EXENTOS de asesoramiento implantados en explotaciones profesionales en la CAPV MODULO B. Cultivos hortícolas y flores en invernadero. TEMA VIII.A: Control integrado en cultivos hortícolas de invernadero. TEMA VIII.B: Control no químico de patógenos de suelo en cultivos hortícolas de invernadero. Escuela Agraria de Mendikoi Arkaute (Álava). Clase de 2 horas de duración el día 13/05/2014.
- Jornada Transferencia Tecnológica. Horticultura: Resultados de Proyectos de Investigación. Organizada por de Área de Horticultura de NEIKER- Derio (Bizkaia). 18/12/2014. 10 a 14 horas. Relación de comunicaciones impartidas por Santiago Larregla relacionadas con la temática del proyecto:
 - 10.15 h: Control de *Meloidogyne* spp. y *Verticillium dahliae* mediante biodesinfección en invernaderos comerciales del País Vasco (Santiago Larregla)
 - 10.30 h: Volátiles liberados durante la biodesinfección y su efecto sobre *Phytophthora capsici* en condiciones de invernadero en Bizkaia (Santiago Larregla)
 - 10.45 h: Efecto de algunas Brásicas como enmiendas de biosolarización sobre el inóculo de *Phytophthora* spp. en invernaderos de Murcia (Santiago Larregla)
 - 11.00 h: Combinación de injerto y biodesinfección en cultivo de pimiento en invernadero para el control de *Phytophthora* en el País Vasco (Santiago Larregla)

5. Desviaciones con respecto a la memoria del proyecto

Incluir en este apartado sólo las relativas al plan de trabajo

El coordinador del proyecto (IMIDA-Murcia) solicita prorroga de finalización del proyecto de diciembre 2014 a junio 2015 para poder justificar la renovación de contrato de personal investigador contratado que interviene en el proyecto.