

Informe final Proyecto I+D y T

CIPASAPI: Reutilización de residuos ganaderos mediante biofumigación con solarización para el control de *Phytophthora capsici* en cultivos de pimiento en invernadero: efecto sobre las esporas de resistencia y la salud del suelo.

Cliente: Dirección de Innovación e Industrias Alimentarias. DMAPTAP. Gobierno Vasco

Contacto Neiker:	Contacto Cliente:
Dr. Santiago Larregla Slarregla@neiker.net 945 121313	Luis Javier Tellería Ij-telleria@ej-gv.es 94 501 63 14

	INFORME FINAL PROYECTO I+D Y T	Ref. NEIKER: VED2007017	Ref. DMAPTAP:
		Ejercicio: 2010	Año Inicio-Año Fin: 2007-2011

Acrónimo: CIPASAPI TITULO: Reutilización de residuos ganaderos mediante biofumigación con solarización para el control de <i>Phytophthora capsici</i> en cultivos de pimiento en invernadero: efecto sobre las esporas de resistencia y la salud del suelo. Jefe de Proyecto: SANTIAGO LARREGLA e-mail: slarregla@neiker.net

Clasificación del proyecto	Unidad de Negocio: Innovación agraria
Departamento: Producción y Protección Vegetal	Campo Aplicación: Protección Vegetal
Área Estratégica: CULTIVOS HORTÍCOLAS	Línea: Control sanitario en la producción hortícola
Tipo de proyecto: Estratégico	Origen: COMITÉS PLANES ESTRATÉGICOS Detalle: Hortícola

Palabras clave		
Objeto: Biofumigación, <i>Phytophthora capsici</i> , Pimiento, Residuos ganaderos, Solarización	Aspecto: Ecología microbiana del suelo, Fitopatología	Finalidad: Producción ecológica, Producción integrada

Objetivo: Evaluación de la eficacia de la adición de materia orgánica con solarización como técnica alternativa para el control de hongos patógenos de suelo en cultivos de pimiento en invernadero en las condiciones agroclimáticas de la CAPV y estudio del efecto de estos tratamientos sobre la salud del suelo.

Objetivos específicos:
1. Adecuación de la metodología para la determinación de la viabilidad de las esporas de resistencia (oosporas) de hongos del género <i>Phytophthora</i> y para la determinación de parámetros microbiológicos con potencial bioindicador de la salud del suelo.
2. Estudio en condiciones de laboratorio del efecto de las temperaturas elevadas, simulando a las alcanzadas en un suelo solarizado, en la inactivación de las oosporas de <i>P. capsici</i> . Estudio en condiciones de laboratorio del efecto de diversas enmiendas orgánicas (Brasicas en verde o desecadas y peletizadas, estiércol fresco de oveja o semicompostado, subproductos de industrias agrarias, etc.) utilizadas como biofumigantes y diferentes condiciones de temperatura (elevadas y moderadas) en la inactivación de las oosporas de <i>P. capsici</i> .
3. Determinar en condiciones de invernadero en Murcia el efecto de la biofumigación y la biosolarización con varios biofumigantes (vegetales frescos: restos de cosecha de brócoli, plantas de mostazas negras y blancas, nabinas, etc.; pelets de mostazas negras y blancas; estiércol fresco y semicompostado de oveja; vinazas de remolacha y vino; subproductos de industrias cítricas, etc.) en la inactivación de las oosporas de <i>P. capsici</i> , así como el efecto en parámetros biológicos con potencial bioindicador de la salud del suelo (biomasa, actividad y biodiversidad de las comunidades microbianas).
4. Determinar en las condiciones de invernadero en el País Vasco el efecto de la biosolarización con varias enmiendas orgánicas, realizada en varias épocas, en la inactivación de las oosporas de <i>P. capsici</i> así como el efecto en la producción de pimiento, en las propiedades físicas, y químicas del suelo, y en algunos parámetros biológicos con potencial bioindicador de la salud del suelo (biomasa, actividad y biodiversidad de las comunidades microbianas).

Duración: 5 años	Fecha inicio: 01/01/2007	Fecha final: 31/12/2011
-------------------------	---------------------------------	--------------------------------

1. EQUIPO PARTICIPANTE DE NEIKER

PARTICIPANTES DE NEIKER

- **Jefe de Proyecto:** Santiago Larregla
- **Otros participantes:** Mireia Nuñez (Becaria predoctoral INIA 2007-2010), Berdaitz Juaristi, Javier Elorrieta, Leire Abaunza, Edurne Perez (desde 2009)

OTRAS ENTIDADES PARTICIPANTES O COLABORADORAS

- MIBA. Sdad. Coop., Avicola Arbaraitz 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

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

4.1. Ensayos inv. País Vasco. Biosolarización. Registro temperatura suelo

Se comentan conjuntamente los resultados obtenidos para los epígrafe 2.1 y 4.1.

En la segunda quincena de junio del 2007 (día 14 a día 28) y permaneciendo cerrado el invernadero túnel, se han registrado temperaturas máximas de 43,5 y 38,2°C en suelo solarizado a 15 cm y a 30 cm de profundidad y de 33,3 y 29,4°C en suelo desnudo a 15 cm y a 30 cm de profundidad respectivamente. Las temperaturas medias registradas en ese mismo periodo y para las anteriores combinaciones han sido de 35,3, 34,5, 27,3, y 26,7°C respectivamente. Vemos que la solarización frente al suelo desnudo consigue incrementar la temperatura media del suelo en 8,0°C a 15 cm de profundidad y en 7,8°C a 30 cm de profundidad en pleno verano, la época del año que podría considerarse más favorable para incrementar la temperatura del suelo y con mayor efecto solarizante.

Se instaló un datalogger y sondas de temperatura de suelo y ambiente dentro de un invernadero túnel (40 m^2) ubicado en la finca experimental que Neiker posee en su centro de Derio (Bizkaia) para el registro en continuo (cada 15 minutos) de la temperatura del suelo durante un periodo próximo a las 6 semanas en tres épocas de ensayo: marzo-abril 2008, septiembre-octubre 2008 y agosto-septiembre 2009. 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 materias orgánicas diferentes (mezcla de estiércol fresco de oveja y gallinaza semiseca, mezcla de estiércol semicompostado de caballo y gallinaza y pellets de harina deshidratada de *Brassica carinata* (producto comercial BIOFENCE)) y en suelo desnudo (sin plástico).

Durante la época ensayada de marzo-abril (inicio el 14-03-08 y duración de 39 días) la temperatura a 15 cm de profundidad tuvo un valor medio de 21,3°C (21,0°C a 30 cm de profundidad) y una media diaria que osciló entre los 16,2 y 27,1°C (16,5 y 26,2°C a 30 cm de profundidad) en el suelo biosolarizado con mezcla de estiércol fresco de oveja y gallinaza semiseca frente a un valor medio de 17,7°C (17,4°C a 30 cm de profundidad) y una media diaria que osciló entre los 13,3 y 21,1°C (13,6 y 20,2°C a 30 cm de profundidad) en el suelo desnudo. La temperatura media del suelo a 15 cm de profundidad de la parcela testigo sin plástico se mantuvo 3,9°C por debajo de la temperatura de las parcelas sometidas a biosolarización y

solarización. No se encontraron diferencias con respecto a la temperatura media de suelo entre las parcelas biosolarizadas (21,3, 21,8 y 21,7°C para el estiércol fresco, el estiércol semicompostado y *Brassica carinata* respectivamente) y la parcela solarizada (21,4°C). La temperatura media diaria a 15 cm de profundidad del suelo con plástico excedió en 7,6°C a la del suelo sin plástico en algunos de los días.

En la época ensayada de septiembre-octubre (inicio el 13-09-08 y duración de 44 días) la temperatura a 15 cm de profundidad tuvo un valor medio de 25,1°C (24,7°C a 30 cm de profundidad) y una media diaria que osciló entre los 22,0 y 27,6°C (22,6 y 26,4°C a 30 cm de profundidad) en el suelo biosolarizado con mezcla de estiércol fresco de oveja y gallinaza semiseca frente a un valor medio de 21,7°C (21,8°C a 30 cm de profundidad) y una media diaria que osciló entre los 17,6 y 24,9°C (18,8 y 24,0°C a 30 cm de profundidad) en el suelo desnudo.

En la época ensayada de agosto-septiembre (inicio el 06-08-09 y duración de 48 días) la temperatura a 15 cm de profundidad tuvo un valor medio de 31,1°C (29,9°C a 30 cm de profundidad) y una media diaria que osciló entre los 36,7 y 23,9°C (33,5 y 24,0°C a 30 cm de profundidad) en el suelo biosolarizado con mezcla de estiércol fresco de oveja y gallinaza semiseca frente a un valor medio de 26,0°C (26,1°C a 30 cm de profundidad) y una media diaria que osciló entre los 29,7 y 21,4°C (29,0 y 21,9°C a 30 cm de profundidad) en el suelo desnudo. La temperatura media diaria a 15 cm de profundidad del suelo con plástico excedió en 8°C a la del suelo sin plástico en algunos de los días.

Al comparar entre si las dos épocas (fin del invierno y comienzo del otoño) en que la práctica de la biosolarización podría ser compatible con el calendario del ciclo de cultivo del pimiento en invernadero en el País Vasco (abril-septiembre) se comprueba que resulta algo más favorable el comienzo del otoño que el fin del invierno. La temperatura media del suelo biosolarizado en el comienzo del otoño (inicio el 13-09-08 y duración de 44 días) fue 3,3°C más elevada que en el final del invierno (inicio el 14-03-08 y duración de 39 días) del mismo año a 15 cm de profundidad y 3,4°C más elevada a 30 cm de profundidad. La temperatura registrada a 15 cm de profundidad en el suelo biosolarizado con estiércol fresco en marzo-abril de 2008 fue: 832 horas a 12,5-25°C, 134 h a 25-30°C y 10 h a 30-32,5°C y en septiembre-octubre de 2008 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 2009 fue: 95 horas a 12,5-25°C, 397 h a 25-30°C, 262 h a 30-32,5°C, 332 h a 32,5-40°C, 66 h a 40-45°C y 1 h a 45-47,5°C.

Las temperaturas registradas en el final del invierno (marzo-abril) y el comienzo del otoño (septiembre-octubre) del año 2008 contrastaron con las del principio del verano del 2007 (segunda quincena de junio) y pleno verano de 2009 (agosto-septiembre).

Se consideran temperaturas subletales, con efecto sobre las esporas de resistencia fúngicas, las comprendidas entre 40 y 45°C, y en menor medida y con tiempos de exposición mucho más largos las comprendidas entre 35 y 40°C.

Los 3 regímenes térmicos fluctuantes que se tiene previsto probar en las estufas con las oosporas de *Phytophthora capsici* en el ensayo de condiciones controladas son:

- Régimen 1: Murcia, agosto, EFO 15 cm: 4 horas 30°C, 4 horas 33°C, 4 horas 37°C, 4 horas 40°C, 4 horas 37°C, 4 horas 33°C
- Régimen 2: Bizkaia, agosto, EFO 15 cm: 5 horas 28,5°C, 4 horas 33°C, 5 horas 36,5°C, 5 horas 31°C, 5 horas 26°C
- Régimen 3: Bizkaia, septiembre, EFO 15 cm: 2 horas 21°C, 5 horas 23°C, 5 horas 25°C, 2 horas 27°C, 5 horas 25°C, 5 horas 23°C

En el régimen 3, se ha elegido inicialmente el de Bizkaia-septiembre, ya que puede ser representativo de Murcia-octubre y Bizkaia-septiembre.

2.2. Ensayos cond. controladas. Análisis suelos, gallinazas y estiércoles.

En los ensayos en condiciones controladas de laboratorio se emplearán las mismas enmiendas que se han utilizado en los ensayos de campo en invernadero del País Vasco en las tres épocas de biosolarización evaluadas (marzo 2008, septiembre 2008 y agosto 2009). Los lotes de enmiendas utilizadas en los ensayos de campo han sido analizadas en cada época mostrando estabilidad en su composición por lo que se empleará la composición media de dichos análisis con los lotes de enmiendas que se utilicen en los ensayos en condiciones controladas.

2.3. Ensayos cond. controladas viabilidad esporas fúngicas – temperaturas.

La ejecución de los ensayos en condiciones controladas (fase 2.3), que estaba prevista iniciarse en octubre 2009, se ha sustituido por el análisis durante 2010 de datos obtenidos en experimentos ejecutados con anterioridad al año 2010 pero que estaban pendientes de tratar ante la gran carga de trabajo de otras tareas sin que ello comprometa el proyecto. El resumen del análisis de estos datos se muestra a continuación.

La inactivación térmica simuló condiciones de campo, empleando diferentes regímenes constantes y cíclicos en suelo húmedo (15-53°C) y en agua (45-53°C) estériles. La viabilidad de las oosporas se evaluó mediante plasmólisis correlacionándola por regresión lineal con el tiempo de exposición. Los tiempos estimados necesarios para matar un determinado porcentaje de oosporas fueron calculados por interpolación.

El tiempo requerido para reducir la viabilidad de las oosporas disminuyó al aumentar la temperatura. Los tiempos requeridos para matar al 100% de las oosporas fueron 199-22-6,6-4,7-1,0 horas a 40-45-47,5-50-53°C respectivamente en suelo húmedo y 31-1,0-0,2 horas a 45-50-53°C en agua.

Las oosporas fueron escasamente afectadas por temperaturas <35°C. Durante 1680 horas a 15-35°C, la supervivencia de oosporas en suelo varió entre 88 y 36%. El régimen de 4 horas-40°C mató al 100% después de 28 días, mientras el régimen de 5 horas-35°C después de 70 días sólo mató al 75%. El tiempo requerido para matar al 100% de oosporas fue acortado significativamente en agua respecto al suelo húmedo.

Los modelos desarrollados pueden utilizarse para predecir valores de supervivencia para cualquier tiempo de exposición a temperaturas constantes de 40-53°C en suelo y de 45-53°C en agua. El debilitamiento de las oosporas de *P. capsici* bajo calentamiento subletal, constituye una observación útil que puede aplicarse en el control del patógeno mediante solarización.

2.4. Ensayos cond. controladas viabilidad esporas fúngicas – temperaturas y enmiendas.

La ejecución de los ensayos en condiciones controladas (fase 2.4), que estaba prevista iniciarse en octubre 2009, se ha aplazado al año 2010 sin que ello comprometa la ejecución de las otras fases del proyecto.

De marzo a septiembre del 2010 se ha elaborado protocolo y se ha ejecutado ensayo con diversos biofumigantes y diferentes regímenes fluctuantes de temperatura en condiciones ambientales controladas de laboratorio. A la fecha de redacción del presente informe, está pendiente realizar el análisis de estos datos.

El suelo enmendado e inoculado con oosporas se incubó dentro de frascos de cristal de 1 litro (con dos tipos de aireación: aireado mediante cierre con parafilm y hermético mediante cierre con tapón) durante 6 semanas en estufa de precisión programada para simular regímenes térmicos fluctuantes representativos de diferentes zonas geográficas y épocas (elaborados a partir de los datos registrados a 15 cm. de profundidad en condiciones de campo).

Los 3 regímenes térmicos que se probaron en las estufas con las oosporas de *P. capsici* en el ensayo de condiciones controladas fueron:

Régimen 1: Murcia, agosto, EFO 15 cm: 4 horas 30°C, 4 horas 33°C, 4 horas 37°C, 4 horas 40°C, 4 horas 37°C, 4 horas 33°C

Régimen 2: Bizkaia, agosto, EFO 15 cm: 5 horas 28,5°C, 4 horas 33°C, 5 horas 36,5°C, 5 horas 31°C, 5 horas 26°C

Régimen 3: Bizkaia, septiembre, EFO 15 cm: 2 horas 21°C, 5 horas 23°C, 5 horas 25°C, 2 horas 27°C, 5 horas 25°C, 5 horas 23°C

El resumen de los resultados de estos datos se muestra a continuación. El aporte de enmiendas orgánicas (mezcla gallinaza-serrín, estiércol fresco de vaca y hojas desecadas y trituradas de nabo) a dosis comprendidas entre 60 y 120 g de peso fresco por kg de suelo seco, mejoró la eficacia respecto al testigo no enmendado en los dos regímenes cíclicos diarios de mayor temperatura (40°C durante 4 horas ó 36,5°C durante 5 horas) pero no en el régimen cíclico de menor temperatura (27°C durante 2 horas). En los suelos enmendados con los residuos ganaderos se precisaron 42-70 días en el régimen cíclico de 36,5°C y 28 días en el régimen cíclico de 40°C para lograr la letalidad de las ooporas, en contraste con porcentajes de supervivencia del 70-80% después de 105 días de exposición al régimen cíclico de menor temperatura (27°C durante 2 horas).

3.1. Ensayos inv. Murcia. Viabilidad oosporas. Producción y análisis.

Se han enviado al IMIDA de Murcia mallas con esporas de resistencia de *Phytophthora capsici* para enterrarlas en el suelo de sus invernaderos experimentales en los que hay planteados ensayos con diseño estadístico para probar diferentes estrategias para el control de patógenos de suelo en cultivo de pimiento en invernadero (bromuro de metilo, biofumigación con solarización con diferentes enmiendas orgánicas (melaza de vino, melaza de remolacha, pellets de Brasicas, estiércol fresco de oveja)). Transcurrido el tiempo de ensayo, el IMIDA ha enviado las esporas de resistencia a NEIKER, donde se ha evaluado el efecto que sobre éstas han ejercido las diferentes estrategias de control. Los resultados de los primeros

ensayos realizados en el año 2007 se presentaron en una comunicación oral en el Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica (SEAE) celebrado en Bullas (Murcia) en septiembre de 2008.

Los resultados más notables obtenidos en 2008 en Murcia se presentaron en jornadas y congresos durante el año 2009 y fueron los siguientes: Se detecta un efecto muy altamente significativo de la época y el tipo de enmienda sobre la inactivación de las esporas de resistencia de *P. capsici*. Ninguno de los tratamientos logran erradicar completamente el inóculo. La biosolarización fue más efectiva en agosto que en octubre. La mejor enmienda fue el estiércol fresco de oveja, sólo o en combinación con la vinaza de remolacha. El estiércol fresco de oveja en agosto registró las mayores temperaturas, siendo el único tratamiento en el que se acumuló un número considerable de horas por encima de 37,5°C y un número apreciable por encima de 40°C. El Bromuro de Metilo fue significativamente más eficaz que los restantes tratamientos de biosolarización aplicados en octubre, que presentaron un comportamiento más homogéneo entre si en esa época (reducciones de la viabilidad inicial del 49-33% e infectividades del 46-63% sobre las plantas).

En 2010 se volvieron a enviar oosporas para los ensayos de Murcia en agosto y octubre. Los análisis fueron analizados en Neiker, confirmándose los resultados de los años 2008 y 2009.

3.2. Ensayos inv. Murcia. Análisis Parámetros bioindicadores salud suelo

Se han realizado análisis de parámetros bioindicadores que permiten definir la salud del suelo en las siguientes muestras de suelo de los ensayos de biosolarización en invernaderos experimentales del IMIDA en Murcia:

24 muestras de suelo muestreadas el 12-08-2008 - Al finalizar el cultivo de la campaña 2008 y antes de la biosolarización de agosto 2008 (análisis de laboratorio ya ejecutado, pendiente el tratamiento y análisis estadístico de los datos a la fecha de redacción de este informe). Se han analizado: actividades enzimáticas (ureasa, beta-glucosidasa, fosfatasa acida y alcalina, arilsulfatasa y deshidrogenasa), nitrógeno potencialmente mineralizable, carbono orgánico soluble y carbono de la biomasa microbiana.

24 muestras de suelo muestreadas el 5-01-2009 - Antes del cultivo de la campaña 2009 (análisis de laboratorio tratamiento y análisis estadístico de los datos ya realizado). Se han analizado: actividades enzimáticas (ureasa, beta-glucosidasa, fosfatasa acida y alcalina, arilsulfatasa, deshidrogenasa), respiración basal y carbono orgánico soluble.

36 muestras de suelo muestreadas el 11-08-2009 - Al finalizar el cultivo de la campaña 2009 y antes de la biosolarización de agosto 2009 (análisis de laboratorio tratamiento y análisis estadístico de los datos ya realizado). 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 Biolog bacterias (placas ecoplates).

36 muestras de suelo muestreadas el 28-12-2009 - Antes del cultivo de la campaña 2010 (análisis de laboratorio tratamiento y análisis estadístico de los datos ya realizado). 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 Biolog bacterias (placas ecoplates).

36 muestras de suelo muestreadas el 02-08-2010 - Al finalizar el cultivo de la campaña 2010 y antes de la biosolarización de agosto 2010 (análisis de laboratorio tratamiento y análisis estadístico de los datos ya realizado). 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 Biolog bacterias (placas ecoplates).

36 muestras de suelo muestreadas el 27-12-2010 - Antes del cultivo de la campaña 2011 (análisis de laboratorio tratamiento y análisis estadístico de los datos ya realizado). 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 Biolog bacterias (placas ecoplates).

El resumen del análisis de parámetros bioindicadores de la salud suelo se muestra a continuación. Los tratamientos de biodesinfección con enmiendas orgánicas provocaron una mejora en la calidad del suelo que se reflejó en los valores más altos de biomasa, actividad y diversidad funcional microbiana. En el testigo sin tratar y en el suelo desinfectado con bromuro de metilo se observaron valores significativamente inferiores a los obtenidos en los suelos biodesinfectados con estiércol fresco (solo o combinado con vinaza de remolacha o con pellets de *Brassica carinata*) en actividades enzimáticas (ureasa, beta-glucosidasa, fosfatasa acida y alcalina, arilsulfatasa y deshidrogenasa), carbono de la biomasa microbiana, nitrógeno potencialmente mineralizable, carbono orgánico soluble y diversidad funcional microbiana en la utilización

de distintas fuentes de carbono. Se encontraron correlaciones significativas positivas entre las actividades enzimáticas y el carbono de la biomasa microbiana. En general no se encontraron diferencias entre los tratamientos de biodesinfección con vinaza y los tratamientos de biodesinfección con estiércol más vinaza.

4.2. Ensayos inv. País Vasco. Viabilidad oosporas. Producción muestreo y análisis

Se ha continuado realizando ensayos para evaluar el efecto de la biosolarización sobre las oosporas (viabilidad e infectividad) de *P. capsici* en invernadero experimental de NEIKER en Bizkaia. Para ello, se han realizado ensayos de biosolarización durante el mes de febrero 2010. 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 2009, se volvió a biosolarizar en febrero 2010 con *Sinapis alba* enterrada en verde para ver si este refuerzo mejora la eficacia sobre la inactivación de las oosporas de *P. capsici*.

4.3. Ensayos inv. País Vasco. Muestreo Parámetros bioindicadores salud suelo.

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 Bizkaia en el que se llevan realizadas biosolarizaciones en tres épocas diferentes: marzo 2008, septiembre 2008, y agosto 2009 (exceptuando las biosolarizaciones de febrero 2009 y de febrero 2010 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:

3 muestras de suelo- Muestreo 22-02-2008 Antes de comenzar los ensayos de biosolarización 2008

15 muestras de suelo- Muestreo 22-04-2008 Tras la biosolarización Marzo 2008 y antes del cultivo 2008

15 muestras de suelo- Muestreo 01-09-2008 Al finalizar el cultivo 2008 y antes de la biosolarización Septiembre 2008

15 muestras de suelo- Muestreo 28-10-2008 Tras la biosolarización Septiembre 2008

6 muestras de suelo- Muestreo 18-02-2009 Antes de la biosolarización con *Sinapis alba* de Febrero 2009

15 muestras de suelo- Muestreo 20-03-2009 Tras la biosolarización con *Sinapis alba* de Febrero 2009 y antes del cultivo 2009

15 muestras de suelo- Muestreo 27-07-2009 Al finalizar el cultivo 2009 y antes de la biosolarización de agosto 2009

15 muestras de suelo- Muestreo 24-09-2009 Tras la biosolarización de agosto 2009

6 muestras de suelo- Muestreo 18-02-2010 Antes de la biosolarización con *Sinapis alba* de Febrero 2010

15 muestras de suelo- Muestreo 26-03-2010 Tras la biosolarización con *Sinapis alba* de Febrero 2010 y antes del cultivo 2010

15 muestras de suelo- Muestreo 17-11-2010 Al finalizar el cultivo 2010

En las muestras de suelo de Bizkaia se han analizado los siguientes bioindicadores: 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 Biolog bacterias (placas ecoplates).

En algunos muestreos de suelo (Muestreos 24-09-2009, 26-03-2010 y 17-11-2010) también se han analizado 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). En los muestreos de principio y fin de cultivo 2010, además se han analizado placas biolog AN con bacterias anaeróbicas (en noviembre 2009 se ha hecho una prueba para puesta a punto con muestras de suelo procedentes de dos tratamientos del ensayo: una de un testigo sin desinfectar y otra de Estiércol fresco de Oveja).

4.4. Ensayos inv. País Vasco. Análisis Parámetros bioindicadores salud suelo.

Los análisis realizados para comprobar el efecto de la aplicación de esta práctica agronómica en la salud del suelo confirmaron los resultados obtenidos en los ensayos anteriores (cultivo 1 del ensayo 2008 y cultivo 2 del ensayo 2009). La biosolarización con enmiendas orgánicas provocó una mejora en las propiedades físicas (aumento de la porosidad e infiltración), químicas (materia orgánica, macronutrientes) y biológicas del suelo (mayor actividad de los enzimas deshidrogenasa, glucosidasa y ureasa). Por último, es importante destacar que se obtuvieron en estos tratamientos plantas más vigorosas y más productivas.

4.5. Ensayos inv. País Vasco. Cultivos pimiento 1 (2008), pimiento 2 (2009), pimiento 3 (2010)

Ensayos en invernadero experimental de NEIKER en Bizkaia

En un invernadero túnel (40 * 9 m²) ubicado en la finca experimental que Neiker posee en su centro de Derio (Bizkaia), en el presente proyecto se ha previsto ensayar tres épocas de biosolarización diferentes (marzo-abril 2008, septiembre-octubre 2008 y agosto-septiembre 2009). Cada una tendrá una duración próxima a las 6 semanas (42 días). Los diferentes tratamientos evaluados en el ensayo se repetirán en el tiempo 3 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 cada una de las tres épocas anteriores se evaluará mediante tres cultivos de pimiento: cultivo 1 (desarrollado entre abril y agosto de 2008), cultivo 2 (desarrollado entre marzo y julio de 2009) y cultivo 3 (desarrollado entre marzo y septiembre de 2010) en los que se registrará la incidencia de enfermedad por *P. capsici* y la productividad. En cada una de las tres épocas de biosolarización además se medirá el efecto sobre la viabilidad mediante plasmolisis y la infectividad de las oosporas del patógeno.

Solamente en el caso de las parcelas del ensayo del invernadero experimental de NEIKER que fueron tratadas con pellets de *Brassica carinata* en septiembre-octubre 2008, se volvió a biosolarizar en febrero 2009 con *Sinapis alba* enterrada en verde para ver si este refuerzo mejora 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 que contenían micelio, esporangios, zoosporas y oosporas de una mezcla de cinco cepas distintas de *P. capsici* (tres cepas A1 procedentes de cultivos de pimiento de Bizkaia: 02/206, 00/004 y 06-13-03; y dos cepas A2 compradas a la Centraalbureau voor Schimmelcultures (Holanda): CBS 370.72 and 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 (estiércoles fresco y semicompostado) que se aplicaron en la segunda (septiembre-octubre 2008) y en la tercera biosolarización (agosto-septiembre 2009) hubo reducción de dosis del 75% y del 20% respecto a la dosis aplicada en la primera biosolarización (marzo-abril 2008). 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 (estiércoles fresco y semicompostado) aplicadas en cada tratamiento se aportaron 5,140 kg/m² de materia seca en la primera biosolarización de marzo-abril 2008, 3,855 kg/m² (criterio reducción de dosis del 75%) de materia seca en la segunda biosolarización de septiembre-octubre 2008 y se aplicó 1,041 kg/m² de materia seca en la tercera biosolarización de agosto-septiembre 2009 (reducción de dosis del 20% respecto a la dosis aplicada en la primera biosolarización). La dosis aportada en la tercera biosolarización fue determinada con el criterio de que el nitrógeno aportado (mineralizado) no superase los 170 Kg N/Ha que impone la legislación comunitaria 91/676 CEE relativa a la contaminación de aguas por nitratos de origen agrícola, e igualando materias secas al que tenía mayor contenido de nitrógeno (estiércol fresco de oveja-gallinaza).

Ensayo primera Biosolarización (marzo-abril 2008)

En el primero de los ensayos se evalúo la eficacia de la biosolarización cuando se realiza antes del comienzo del cultivo (Marzo-Abril).

Los cinco diferentes tratamientos evaluados en el primer ensayo de biosolarización de marzo-abril 2008 fueron los siguientes: 1. Biosolarización con Estiércol fresco de oveja a 8,2 kg/m² + Gallinaza semiseca a 1,8 kg/m² (EFO + G) (3,598 + 1,542 = 5,140 kg/m² de materia seca); 2. Biosolarización con Estiércol semicompostado a 8,783 kg/m² (mezcla de Caballo + gallinaza) (CAB + G) (5,140 kg/m² de materia seca); 3. Biosolarización con Pelets de *Brassica carinata* (BIOFENCE) a 0,3 kg/m²; 4. Testigo sin plástico; 5. Testigo con plástico. Datos sobre la primera biosolarización: Inicio biosolarización: 14-03-08. Duración biosolarización: 39 días. Riego previo a la biosolarización de 27 L/m² aplicado por aspersión. Plástico transparente (PE 200 galgas). Este primer ensayo de biosolarización realizado en marzo-abril 2008 se evaluó en 2008 con un cultivo de pimiento de abril a agosto de 2008 (cultivo 1).

Durante este ensayo se determinó el efecto de la biosolarización sobre las esporas de resistencia de *P. capsici* (viabilidad e infectividad), sobre el desarrollo del cultivo de pimiento (incidencia de enfermedad, vigor o altura de las plantas y producción), así como el efecto de la aplicación de esta práctica agronómica sobre las propiedades físicas (densidad aparente, infiltración acumulada), químicas (pH, conductividad, materia

orgánica, macro y micronutrientes) y biológicas del suelo (bioindicadores microbianos de biomasa, actividad y diversidad).

La primera biosolarización realizada en marzo-abril 2008 no resultó efectiva en la inactivación completa de las esporas de resistencia de *P. capsici* (oosporas). A pesar de que en las parcelas biosolarizadas con EFO + G se observó una reducción del 32% en la viabilidad de las esporas de resistencia del patógeno con respecto a la viabilidad inicial, todas las oosporas sometidas al proceso de biosolarización resultaron infectivas para plantas de pimiento como pudo observarse en el bioensayo de infectividad realizado en condiciones controladas en cámara de cultivo. Aunque el tratamiento EFO + G no inactivó completamente las oosporas del patógeno, produjo una reducción significativa en su viabilidad con respecto al resto de tratamientos, debido a la generación de compuestos volátiles procedentes de la biodescomposición de la materia orgánica aplicada.

La temperatura registrada a 15 cm de profundidad en el suelo acolchado durante el proceso de biosolarización (832 horas a 12.5-25°C, 134 h a 25-30°C y 10 h a 30-32.5°C), fue insuficiente para la inactivación térmica de las oosporas de *P. capsici*, no existiendo, por tanto, efecto solarizante. Sin embargo, la adición de enmiendas orgánicas, especialmente EFO + G, provocó un aumento en la capacidad supresiva del suelo, mediante un aumento de la actividad microbiana del suelo, estimada a través de la actividad deshidrogenasa y la respiración basal.

La biosolarización, en los tratamientos EFO + G y CAB + G, mejoró las propiedades físicas del suelo, aumentando la porosidad (disminución de la densidad aparente) y la infiltración y, las propiedades químicas, aumentando el C y N mineralizables así como produciendo un notable aumento de los elementos esenciales para las plantas.

El tratamiento de biosolarización con EFO + G fue en el que el cultivo de pimiento presentó la menor incidencia de enfermedad por *P. capsici*, el mayor vigor vegetativo (mayor altura de las plantas) y la mayor producción, resultando un efecto altamente significativo del tratamiento sobre todos estos parámetros.

Los resultados de estos ensayos dieron lugar a una comunicación en poster y a un artículo escrito titulado "APPLICATION OF ORGANIC AMENDMENTS FOLLOWED BY PLASTIC MULCHING FOR THE CONTROL OF PHYTOPHTHORA ROOT ROT OF PEPPER IN NORTHERN SPAIN" que fue presentado en el VII International Symposium On Chemical and non-Chemical Soil and Substrate Disinfestation (13-18 Septiembre de 2009, Leuven (Belgium)). El resumen del presente trabajo se muestra en el siguiente párrafo.

APPLICATION OF ORGANIC AMENDMENTS FOLLOWED BY PLASTIC MULCHING FOR THE CONTROL OF PHYTOPHTHORA ROOT ROT OF PEPPER IN NORTHERN SPAIN

The application of organic amendments followed by soil plastic mulching is considered an environmentally-friendly approach for the control of soilborne plant pathogens. Our objective was to evaluate the effectiveness of this approach in the Basque Country (northern Spain), an area characterized by humid temperate climate, during a period of the year, compatible with protected pepper culture, in which climatic conditions have a low soil heating effect. To this aim, a greenhouse experiment was carried out to compare the effects of plastic mulching, alone and in combination with three different organic amendments, on *Phytophthora* root rot of pepper caused by *Phytophthora capsici*. Organic soil amendments, i.e. a mixture of fresh sheep manure and chicken litter (2.33:1, DW:DW), a semicomposted mixture of horse and chicken manure (1:1, FV:FV) and *Brassica carinata* commercial pellets, were incorporated into artificially infested soil and covered with plastic film for 40 days. After this time, pepper plants (*Capsicum annuum*, cv. "Derio") were planted and inoculum survival evaluated. During crop development, disease incidence was periodically controlled as well as plant production and vigour (plant height). Although soil temperature in plastic mulched soil at 15 cm depth was not high enough for thermal inactivation of the inoculum (832 h at 12.5-25°C, 134 h at 25-30°C and 10 h at 30-32.5°C), the application of a mixture of fresh sheep manure and chicken litter followed by plastic mulching did manage to negatively affect *P. capsici* inoculum survival. Nonetheless, disease incidence was significantly reduced by 80-90% with both animal amendments, possibly through increasing soil suppressiveness. The application of animal amendments increased plant growth and resulted in more productive plants, compared to untreated controls. Our results suggest that some organic amendments followed by plastic mulching may reduce the incidence of *Phytophthora* root rot in the Basque Country. Further research is needed to investigate the impact of this approach on soil functioning.

Ensayo segunda Biosolarización (septiembre-octubre 2008)

El objetivo del segundo ensayo fue evaluar la eficacia de la biosolarización cuando se aplica después de finalizar el cultivo de pimiento. El ensayo comenzó a mediados de Septiembre y durante el mismo se determinó el efecto de la reiteración de esta práctica con menores dosis de enmienda sobre los mismos parámetros analizados durante el ensayo de la primera biosolarización.

Los cinco diferentes tratamientos evaluados en el segundo ensayo de biosolarización de septiembre-octubre 2008 fueron los siguientes: 1. Biosolarización con Estiércol fresco de oveja a 6,505 kg/m² + Gallinaza semiseca a 1,430 kg/m² (EFO + G) (2,699 + 1,157 = 3,855 kg/m² de materia seca); 2. Biosolarización con

Estiércol semicompostado a 9,655 kg/m² (mezcla de Caballo + gallinaza) (CAB + G) (3,855 kg/m² de materia seca); 3. Biosolarización con Pellets de *Brassica carinata* (BIOFENCE) a 0,3 kg/m²; 4. Testigo sin plástico; 5. Testigo con plástico. Datos sobre la segunda biosolarización: Inicio biosolarización: 13-09-08. Duración biosolarización: 44 días. Riego de 52 L/m² aplicado por goteo y fraccionado en 5 riegos diarios de 30 minutos cada uno durante los 5 primeros días desde el comienzo de la biosolarización al colocar el plástico de acolchado y después de haber incorporado las enmiendas. Plástico transparente (PE 200 galgas). Este segundo ensayo de biosolarización realizado en septiembre-octubre 2008 se evaluó en 2009 con un cultivo de pimiento de marzo a julio de 2009 (cultivo 2).

En el ensayo de septiembre-octubre de 2008 los tratamientos más efectivos en cuanto a la inactivación de las oosporas de resistencia del patógeno han sido las biosolarizaciones con estiércoles, reduciendo un 40% la viabilidad inicial aunque continuaron mostrándose infectivas sobre todas las plantas de pimiento ensayadas, al igual que en el anterior ensayo (marzo-abril 2008). Esta reducción fue mayor que en el ensayo de marzo-abril 2008, y parece relacionada con la mayor emisión de amoníaco registrada en estas parcelas, ya que no se pudo atribuir al efecto solarizante (debido a la temperatura). La temperatura alcanzada en el suelo, a pesar de ser más elevada que durante la biosolarización realizada en marzo-abril de 2008, siguió siendo insuficiente para conseguir la inactivación térmica de las oosporas. La temperatura registrada a 15 cm de profundidad en el suelo biosolarizado con estiércol fresco en marzo-abril de 2008 fue: 832 horas a 12.5-25°C, 134 h a 25-30°C y 10 h a 30-32.5°C y en septiembre-octubre de 2008 fue: 556 horas a 12.5-25°C, 523 h a 25-30°C y 11 h a 30-32.5°C.

Los resultados obtenidos durante el primer ensayo de biosolarización (marzo-abril 2008) no mostraron diferencias significativas en cuanto a la supervivencia del inóculo y su posterior incidencia de enfermedad en el cultivo entre la parcelas biosolarizadas con pellets de *Brassica carinata* y las parcelas del testigo. Con el objeto de mejorar la eficacia del tratamiento, tras la realización del segundo ensayo (septiembre-octubre 2008), se decidió reforzar el efecto de los pellets de *B. carinata* con la incorporación de un abono en verde de *Sinapis alba* (mostaza blanca) que solamente fue sembrado en las mismas parcelas a mediados de noviembre de 2008. Una vez que el cultivo alcanzó suficiente estado de desarrollo (inicio floración y 4,46 kg/m² de biomasa en fresco) fue triturado e incorporado al suelo. Las parcelas se cubrieron con plástico durante 4 semanas antes del inicio del cultivo 2009 (febrero-marzo 2009). Hay que remarcar, por tanto, que estas parcelas recibieron doble tratamiento uno en septiembre-octubre de 2008 con pellets de *B. carinata* y otro en febrero-marzo de 2009 con el cultivo en verde de *S. alba*.

La aplicación de una segunda biosolarización en febrero 2009 con un cultivo en verde de *S. alba* aplicado como refuerzo a la biosolarización de septiembre 2008 con pellets de *B. carinata*, no redujo la viabilidad de las oosporas respecto al testigo pero si disminuyó su infectividad, concordando con la menor incidencia de enfermedad en el cultivo de pimiento posterior (cultivo 2 del ensayo 2009), superando incluso la eficacia de las dos enmiendas orgánicas de origen animal (estiércoles fresco y semicompostado). A diferencia del cultivo del ensayo anterior (cultivo 1 del ensayo 2008), este tratamiento mejoró su eficacia con respecto a las parcelas biosolarizadas con estiércoles de origen animal. La producción comercial (docenas/m²) y vigor (altura) de las plantas de pimiento fue superior en las parcelas biosolarizadas con estiércol semicompostado. La biosolarización con estiércoles (tanto en el fresco como el semicompostado) aumentó significativamente la porosidad (disminución de la densidad aparente) en los dos primeros subhorizontes del suelo (0-10 y 10-20 cm), así como la actividad microbiana total que suele correlacionarse con la mayor capacidad supresiva general del suelo frente a enfermedades.

Ensayo tercera Biosolarización (agosto-septiembre 2009)

El objetivo del tercer ensayo fue evaluar la eficacia de la biosolarización cuando se aplica en agosto-septiembre, la época más favorable a la solarización por ser la de mayor radiación solar y temperatura del suelo pero desfavorable por coincidir con el momento de plena producción del ciclo del cultivo de pimiento en invernadero en suelo sin calefacción en el País Vasco. Esta época podría resultar interesante para el caso de cultivos que muestran enfermedad con una progresión muy temprana y/o con elevada incidencia. El ensayo comenzó a principios de agosto y durante el mismo se determinó el efecto de la reiteración de esta práctica con menores dosis de enmienda sobre los mismos parámetros analizados durante los ensayos de la primera y segunda biosolarización.

Los cinco diferentes tratamientos evaluados en el tercer ensayo de biosolarización de agosto-septiembre 2009 fueron los siguientes: 1. Biosolarización con Estiércol fresco de oveja a 2,047 kg/m² + Gallinaza semiseca a 0,479 kg/m² (EFO + G) (0,729 + 0,312 = 1,041 kg/m² de materia seca); 2. Biosolarización con Estiércol semicompostado a 1,930 kg/m² (mezcla de Caballo + gallinaza) (CAB + G) (1,041 kg/m² de materia seca); 3. Biosolarización con Pellets de *Brassica carinata* (BIOFENCE) a 0,3 kg/m²; 4. Testigo sin plástico; 5. Testigo con plástico. Datos sobre la tercera biosolarización: Inicio biosolarización: 06-08-09. Duración biosolarización: 47 días. Riego previo a la biosolarización de 21,6 L/m² aplicado por aspersión. Plástico transparente (PE 200 galgas). Este tercer ensayo de biosolarización realizado en agosto-septiembre 2009 se evaluó en 2010 con un cultivo de pimiento de marzo a septiembre de 2010 (cultivo 3).

La 3^a biosolarización en agosto 2009, en contraposición con las realizadas en marzo 2008 (1^a) y septiembre 2008 (2^a), redujo significativamente la supervivencia del inóculo (tanto la viabilidad de las oosporas como su infectividad) en las parcelas biosolarizadas con estiércoles. La mayor reducción se produjo en el inóculo enterrado a 15 cm de profundidad y en las parcelas enmendadas con estiércol fresco. Esta mayor reducción de la supervivencia de las oosporas de *P. capsici*, en comparación con los anteriores ensayos, está ligada a la mayor temperatura registrada en el suelo durante el tratamiento, que favorece una mayor biodescomposición de la materia orgánica, generándose una mayor cantidad de compuestos volátiles además de un ambiente reductor (escasez de oxígeno) en el suelo. La temperatura registrada en el suelo durante la biosolarización de agosto 2009, a pesar de ser más elevada que en las biosolarizaciones anteriores, fue insuficiente para la inactivación térmica de las esporas de resistencia (no reducción de la supervivencia en parcelas con plástico sin enmienda y en las biosolarizadas con pellets de *Brassica carinata*). La ausencia de diferencias significativas entre las parcelas control y las cubiertas con plástico sin enmienda confirma la hipótesis de que la temperatura registrada en el suelo durante la solarización en agosto-septiembre (mejor época en las condiciones climáticas de la CAPV), es insuficiente para la inactivación térmica de las esporas de resistencia del patógeno. En relación a los resultados obtenidos en el cultivo, la biosolarización con estiércol semicompostado fue el único tratamiento que redujo significativamente la incidencia de la enfermedad en relación a las parcelas sin desinfectar, a pesar de ser menos efectivo que el estiércol fresco en cuánto a reducción del inóculo en el suelo.

Además del efecto de esta práctica agronómica sobre el patógeno se ha evaluado su efecto sobre las propiedades del suelo. La biosolarización con estiércoles provocó una mejora en las propiedades físicas (disminución de la densidad aparente y la infiltración de agua del suelo), químicas (aumento de la materia orgánica, macro y micronutrientes) y biológicas (aumento de la actividad, biomasa y diversidad microbiana) del suelo. Estas mejoras en las propiedades del suelo están íntimamente relacionadas con la eficacia de la biosolarización.

La biosolarización “de refuerzo” en febrero 2010 con *Sinapis alba* enterrada en verde no redujo la supervivencia del patógeno, al igual que en el ensayo del año 2009.

La producción comercial (docenas/ m²) y vigor (altura) de las plantas fue ligeramente superior en las parcelas biosolarizadas con estiércoles.

La biosolarización con estiércoles (fresco y semicompostado) mejoró las propiedades químicas, biológicas y físicas del suelo (aumento significativo de la porosidad en los subhorizontes 0-30 cm del suelo y aumento de la infiltración de agua).

La efectividad de la biosolarización para impedir el desarrollo de la enfermedad se debió más a la mejora en las propiedades físicas y biológicas del suelo que a la erradicación del inóculo antes de plantar el cultivo.

4.6. Ensayos inv. País Vasco. Muestreo para análisis suelo físico-químico

Se han tomado 93 muestras de suelo que se mandaron al laboratorio certificado Moprilab correspondientes a: a) 3 Muestras de suelo antes de la biosolarización (tres bloques del ensayo) (Fecha de muestreo: 22-02-2008); codificadas en letra: Túnel 2 Bloque 1, Túnel 2 Bloque 2 y Túnel 2 Bloque 3. b) 15 Muestras de suelo (5 tratamientos x 3 repeticiones) recogidas después de finalizar Biosolarización de Marzo de 2008 y al comenzar el cultivo 1 (Fecha de muestreo: 22-04-2008). c) 15 Muestras de suelo recogidas al finalizar el cultivo 1 (Fecha de muestreo: 01-09-2008). d) 15 Muestras de suelo recogidas al comenzar el cultivo 2 (Fecha de muestreo: 20-03-2009). e) 15 Muestras de suelo recogidas al finalizar el cultivo 2 (Fecha de muestreo: 27-07-2009). f) 15 Muestras de suelo recogidas al comenzar el cultivo 3 (Fecha de muestreo: 26-03-2010). g) 15 Muestras de suelo recogidas al finalizar el cultivo 3 (Fecha de muestreo: 17-11-2010).

La enmienda de estiércol fresco (mezcla oveja y gallinaza) al finalizar el cultivo 1 realizado durante el año 2008, fue el tratamiento que presentó niveles significativamente más elevados para la mayoría de los parámetros analizados destacando materia orgánica total, materia orgánica oxidable, fósforo asimilable, manganeso asimilable, zinc asimilable, conductividad eléctrica, potasio, magnesio total, sodio total, cloruros, nitratos; potasio, calcio, magnesio y sodio solubles. Se observó aumento significativo entre el comienzo y fin del cultivo en el nitrógeno total, manganeso asimilable, conductividad eléctrica, sodio total, sulfatos, nitratos, calcio, magnesio y sodio solubles. Al comienzo del cultivo 3 realizado durante el año 2010, los estiércoles presentaron los valores más elevados sin diferencias notables entre el estiércol fresco y el semicompostado pero si respecto a los restantes tres tratamientos que entre sí no se diferenciaron (testigo, plástico y biosolarizado con pellets de *Brassica carinata-Sinapis alba* en verde). A la fecha de redacción de este informe se encuentra pendiente el tratamiento y análisis estadístico de los datos del muestreo f) y g) del cultivo 3 realizado durante el año 2010.

4.7. Ensayos inv. País Vasco. Muestreo para análisis gallinazas y estiércoles.

Muestreo para análisis de caracterización y elección de las enmiendas orgánicas utilizadas en los ensayos

Se han tomado 5 muestras de enmiendas orgánicas con las siguientes características:

- 1) Mezcla Lodos papelera + Gallinaza fresca (60%: 40% en volumen), 3 meses edad, Fecha muestreo: 27-02-08.
- 2) Mezcla Lodos papelera + Gallinaza fresca (60%: 40% en volumen), 2 semanas edad, Fecha muestreo: 27-02-08
- 3) Estiércol semicompostado (25 días 60°C) mezcla de Estiércol seco caballo + Gallinaza fresca (50%: 50% en volumen), 30 días de edad, Fecha muestreo: 22-02-08. (CAB + G)
- 4) Estiércol fresco de oveja con alto contenido en paja, 3-4 meses edad, Fecha muestreo: 15-02-08. (EFO)
- 5) Gallinaza semiseca de foso (Zona Pasillo con menor Humedad Nave 1), 2 meses de edad, Fecha muestreo: 15-02-08. (G)

Éstas se mandaron al laboratorio certificado Moprilab etiquetadas con los números: 4, 5, 6, 7, 8 (los numeros de registro de Neiker correspondientes son: 008.03431.002, 008.03431.003, 008.03433.001, 008.03434.001, 008.03442.001). Estas muestras están codificadas con un número de referencia de Moprilab: del BS011/08 al BS015/08 (ambos incluidos). Finalmente se escogieron las tres enmiendas 3), 4) y 5) para configurar los dos tratamientos del ensayo de origen animal que fueron Estiércol fresco de oveja + Gallinaza semiseca (EFO + G) y Estiércol semicompostado (mezcla de Caballo + gallinaza) (CAB + G). Se desestimaron las dos enmiendas 1) y 2) al presentar un componente de origen industrial (lodos de papelera) que les confería un contenido elevado en ciertos metales pesados (cromo) o en ciertos oligoelementos (cobre).

En general puede decirse que los tratamientos de biodesinfección con enmiendas orgánicas condujeron a mayores valores en el suelo de carbono orgánico total, nitrógeno total, fósforo asimilable y catión potasio cambiante, valores más altos de conductividad eléctrica y valores similares de pH. En la tabla que se muestra a continuación se dan los valores medios de diferentes parámetros físico-químicos de suelo después del aporte de la 3^a biodesinfección (agosto-septiembre 2009) coincidente con el comienzo del tercer cultivo de pimiento (ensayo año 2010).

Tabla. Valores medios de diferentes parámetros físico-químicos de suelo después del aporte de la 3^a biodesinfección (agosto-septiembre 2009) coincidente con el comienzo del tercer cultivo de pimiento (ensayo año 2010).

Tratamiento	Materia Orgánica Total (%)	Carbono Orgánico Total (%)	Nitrógeno Total (%)	Fósforo Asimilable (meq/L)	Potasio (meq/100g)	pH	C.E. (ds/m)
Control	4,8	2,8	0,2	109,8	0,3	6,9	1,7
Plástico	5,3	3,1	0,2	108,2	0,5	6,7	2,0
Estiércol Semicompostado	6,8	4,0	0,3	247,0	1,8	6,9	3,1
Estiércol Fresco	7,3	4,2	0,3	288,8	3,2	7,1	3,8
B. carinata pellets + S.alba	5,2	3,0	0,2	126,9	0,7	7,0	2,1

5. Tratamiento de datos y elaboración de informes

Se han tratado datos y elaborado informe de la primera y la segunda anualidad para el INIA (proyecto cofinanciado). Se ha intervenido con 5 paneles en dos congresos nacionales, tres paneles en tres congresos internacionales y como ponente en dos comunicaciones orales en otros dos congresos nacionales. Se han escrito siete publicaciones científicas internacionales (4 artículos en revistas indexadas con factor de impacto y 3 proceedings de Congreso internacional en Acta Horticulturae).

- Otros resultados obtenidos (si es necesario)

REDUCCIÓN DE LA VIABILIDAD DE LAS OOSPORAS DE *Phytophthora capsici* POR GASES VOLÁTILES LIBERADOS DURANTE LA BIOSOLARIZACIÓN EN INVERNADEROS DE MURCIA Y

Phytophthora capsici es uno de los hongos de suelo causantes de la “Tristeza” en los cultivos de pimiento en invernadero de Murcia y Bizkaia. En la biosolarización intervienen varios factores que determinan la eficacia de esta práctica para reducir el inóculo de los patógenos en el suelo. El objeto de este estudio ha sido comprobar el efecto de los gases volátiles que se liberan durante la biosolarización con enmiendas orgánicas de origen animal sobre la viabilidad de las oosporas de *P. capsici*, propágulos de resistencia que permanecen en el suelo como inóculo residual para el ciclo de cultivo siguiente y actúan como responsables de la persistencia de la enfermedad en el tiempo. Las oosporas fueron incubadas en condiciones controladas de temperatura consideradas inocuas (20°C) en laboratorio frente a gases volátiles procedentes de parcelas biosolarizadas en campo y muestreados en diferentes momentos durante el proceso de biosolarización que constituyeron los tratamientos del experimento: 0, 2, 3, 4, 7, 9, 11, 14, 16, 21 y 28 días después del sellado del suelo enmendado con plástico, sucesión de los días 9-11-14-21-28 y sucesión de los días 2-3-4-7-9-11-14-16-21-28 en Murcia; y 0, 1, 2, 3, 4, 7, 9, 11 14 días y sucesión de los días 1-2-3-4-7-9-11-14 en Bizkaia. En cada región las parcelas fueron biosolarizadas en condiciones reales en invernadero con diferentes dosis de enmienda orgánica y en diferentes épocas: dosis elevada en septiembre en Murcia y dosis baja en junio-julio en Bizkaia. La viabilidad se determinó mediante el método de plasmólisis. Ninguno de los tratamientos logró erradicar completamente el inóculo. En ambas regiones, la exposición a la sucesión de gases volátiles recogidos durante todos los días de muestreo resultó el tratamiento más efectivo en reducir la viabilidad del inóculo, aunque sólo difirió significativamente del resto de los tratamientos en el caso de Murcia pero no en Bizkaia. Las diferencias obtenidas entre ambas zonas parecieron guardar estrecha relación con las diferentes cantidades de enmienda aplicadas, que en el caso de Bizkaia podría haber determinado no alcanzar el umbral crítico de enmienda que se precisa para generar una cantidad suficiente de compuestos volátiles que afecten al inóculo en las condiciones del experimento.

INFORME TÉCNICO

3. INFORMACIÓN CIENTÍFICA GENERADA

▪ Publicaciones Científicas Internacionales

Se han escrito siete publicaciones científicas internacionales (4 artículos en revistas indexadas con factor de impacto y 3 proceedings de Congreso internacional en Acta Horticulturae).

Autores (p.o. de firma): Arriaga H., Núñez-Zofio M., Larregla S., Merino P.

Título: Gaseous emissions from soil biodisinfestation by animal manure on a greenhouse pepper crop

Ref. Revista: Crop Protection

Libro:

Clave: A Volumen: 30(4) Páginas, inicial: 412

final: 419 Fecha: 2011

Editorial (si libro):

Lugar de publicación:

Autores (p.o. de firma): Etxeberria A., Mendarte S., Larregla S.

Título: Determination of viability of *Phytophthora capsici* oospores with the tetrazolium bromide staining test versus a plasmolysis method

Ref. Revista: Revista Iberoamericana de Micología

Libro:

Clave: A Volumen: 28(1) Páginas, inicial: 43

final: 49 Fecha: 2011.

Editorial (si libro):

Lugar de publicación:

Autores (p.o. de firma): Etxeberria A., Mendarte S., Larregla S.

Título: Thermal inactivation of *Phytophthora capsici* oospores

Ref. Revista: Revista Iberoamericana de Micología

Libro:

Clave: A Volumen: 28(2) Páginas, inicial: 83

final: 90 Fecha: 2011

Editorial (si libro):

Lugar de publicación:

Autores (p.o. de firma): Núñez-Zofío M., Larregla S., Garbisu C.

Título: Application of organic amendments followed by soil plastic mulching reduces the incidence of *Phytophthora capsici* in pepper crops under temperate climate

Ref. Revista: Crop Protection

Clave: A Volumen: 30(4) Páginas, inicial: 1563

Libro:

final: 1572

Fecha: 2011

Editorial (si libro):

Lugar de publicación:

Autores (p.o. de firma): Núñez-Zofío M., Garbisu C., Larregla S.

Título: Application of organic amendments followed by plastic mulching for the control of *Phytophthora* root rot of pepper in northern Spain

Ref. Revista Libro: Acta Horticulturae

Clave: A Volumen: 883 Páginas, inicial: 353 final: 360

Fecha: 2010

Editorial (si libro): ISBN 978 90 6605 623 7. Eds.: A. Gamliel, A. Vanatcher, J. Katan

Lugar de publicación: Gent-Oostakker (Bélgum)

Autores (p.o. de firma): Guerrero M.M., Martínez M.A., Ros C., Lacasa C.M., Martínez V., Lacasa A., Fernández P., Núñez-Zofío M., Larregla S., Díez-Rojo M.A., Bello A.

Título: Effect of biosolarization using pellets of *Brassica carinata* on soil-borne pathogens in protected pepper crops

Ref. Revista Libro: Acta Horticulturae

Clave: A Volumen: 883 Páginas, inicial: 337 final: 344

Fecha: 2010

Editorial (si libro): ISBN 978 90 6605 623 7. Eds.: A. Gamliel, A. Vanatcher, J. Katan

Lugar de publicación: Gent-Oostakker (Bélgum)

Autores (p.o. de firma): Guerrero M.M., Martínez M.A., Ros C., Lacasa C.M., Martínez V., Lacasa A., Fernández P., Núñez-Zofío M., Larregla S., Díez-Rojo M.A., Bello A.

Título: Efficacy of biosolarization with sugar beet vinasses for soil disinfestation in pepper greenhouses

Ref. Revista Libro: Acta Horticulturae

Clave: A Volumen: 883 Páginas, inicial: 345 final: 352

Fecha: 2010

Editorial (si libro): ISBN 978 90 6605 623 7. Eds.: A. Gamliel, A. Vanatcher, J. Katan

Lugar de publicación: Gent-Oostakker (Bélgum)

▪ Publicaciones Científicas Nacionales

▪ Comunicaciones a Congresos, Reuniones, Simposios

Se ha intervenido con 5 paneles en dos congresos nacionales, tres paneles en tres congresos internacionales y como ponente en dos comunicaciones orales en otros dos congresos nacionales.

Autores: Núñez, M.; Guerrero, M.M., Lacasa, C.M., Ros, C., Martínez, V., Martínez, M.A., Lacasa, A., Larregla, S.

Título: Efecto de la biosolarización sobre la viabilidad de las oosporas de *Phytophthora capsici* en invernaderos de Murcia y Bizkaia.

Tipo de participación: Comunicación Oral

Congreso: VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica / IV Congreso Iberoamericano de Agroecología

Lugar de celebración: Bullas (Murcia) Fecha: 16-20 de septiembre de 2008

Autores: Larregla S., Pérez E., Juaristi B., Núñez M.

Título: Evaluación de la resistencia de pimientos autóctonos del País Vasco a *Phytophthora capsici*

Tipo de participación: Póster

Congreso: IV Congreso de Mejora Genética de Plantas

Lugar de celebración: Córdoba Fecha: 14-16 de octubre de 2008

Autores: Núñez-Zofío, M., Larregla S., Garbisu C.

Título: Effects of biosolarization on soil microbial communities

Tipo de participación: Póster

Congreso: *II International Conference on Soil and Compost Eco-biology*

Lugar de celebración: Puerto de la Cruz (Tenerife) Fecha: 26-29 de noviembre de 2008

Autores: Larregla S., Pérez E., Juaristi B., Núñez M.

Título: Valoración de la agresividad de una colección de cepas de *Phytophthora capsici* aisladas en cultivos de pimiento del País Vasco

Tipo de participación: Póster

Congreso: *XII Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas / VI Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas*

Lugar de celebración: Logroño Fecha: 25-29 de mayo de 2009

Autores: Larregla S., Pérez E., Juaristi B., Núñez M.

Título: Valoración de la agresividad de una colección de cepas de *Phytophthora cryptogea* aisladas en cultivos de pimiento del País Vasco

Tipo de participación: Póster

Congreso: *V Congreso de Mejora Genética de Plantas*

Lugar de celebración: Madrid Fecha: 7-9 de julio de 2010

Autores: Larregla S., Pérez E., Juaristi B., Núñez M.

Título: Evaluation of resistance of pepper varieties from the Basque Country to *Phytophthora cryptogea*

Tipo de participación: Póster

Congreso: XIVth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding on Capsicum & Eggplant

Lugar de celebración: Valencia Fecha: 30 agosto-1 de septiembre de 2010

Autores: Arriaga H., Menéndez S., Ibargoitia M.L., Viguria M., Núñez-Zofío M., Larregla S., Merino P.

Título: Nitrous oxide emissions following soil biodisinfestation with animal manure on a greenhouse pepper crop

Tipo de participación: Póster

Congreso: *14th RAMIRAN (Research Network on Recycling of Agricultural and Industrial Residues in Agriculture) International Conference. "Treatment and use of organic residues in agriculture: Challenges and Opportunities towards sustainable management"*

Lugar de celebración: Lisboa (Portugal) Fecha: 13-15 de septiembre de 2010

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

Título: Supervivencia de *Phytophthora* a la biosolarización en distintas fechas en invernaderos de pimiento de la Región de Murcia

Tipo de participación: Póster

Congreso: *XV Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología*

Publicación: Resumen de ponencias y posters del congreso. Página ____

Lugar de celebración: Vitoria-Gasteiz Fecha: 27 septiembre-1 de octubre de 2010

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

Título: Biofumigación con *Sinapis alba* para el control de *Phytophthora capsici* en invernaderos del País Vasco

Tipo de participación: Póster

Congreso: *XV Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología*

Publicación: Resumen de ponencias y posters del congreso. Página ____

Lugar de celebración: Vitoria-Gasteiz Fecha: 27 septiembre-1 de octubre de 2010

Autores: Nuñez M., Guerrero M.M., Lacasa C.M., Martínez V., Fernandez P., Larregla S.

Título: Reducción de la viabilidad de las oosporas de *Phytophthora capsici* por gases volátiles liberados durante la biosolarización en invernaderos de Murcia y Bizkaia.

Tipo de participación: Comunicación oral (presentada por Alfredo Lacasa)

Congreso: *IX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica*

Lugar de celebración: Lleida Fecha: 6-9 de octubre de 2010

▪ Artículos de Divulgación

▪ Monografías

▪ Informes Técnicos

Informes técnicos anuales entregados al DAP con periodicidad anual.

4. ACTIVIDADES DE FORMACIÓN Y TRANSFERENCIA REALIZADAS

Se han realizado tres Jornadas de Puertas abiertas (Ámbito: Bizkaia, Gipuzkoa, Álava) para mostrar resultados al sector productor de los tres ensayos realizados durante los años 2008, 2009 y 2010 en el túnel invernadero de la finca experimental de Neiker en Derio (I, II y III Jornadas de puertas abiertas para presentación de resultados al sector. NEIKER-Tecnalia, centro Derio, realizadas respectivamente en las fechas 25-08-2008, 02-07-2009 y 27-10-2010).

Se ha realizado un video filmando el final del cultivo 3 realizado en el año 2010 (correspondiente al ensayo para evaluar la biosolarización de agosto-septiembre 2009) que fue emitido el 27-11-2010 en el programa SUSTRAI de las televisiones vascas ETB1 y ETB2.

Tutor beca predoctoral

En el año 2006 fue concedida Beca predoctoral financiada por el INIA al centro Neiker-Derio para ejecutar durante el período 2007-2010. Resolución publicada en BOE nº 208 de Jueves 31 agosto de 2006, páginas 31432-31433. La persona beneficiaria de dicha beca predoctoral ha sido Dª Mireia Nuñez Zofío. Se ha incorporado al centro Neiker-Derio el 15-01-2007. El tutor y responsable en Neiker-Derio asignado para la formación del becario ha sido Santiago Larregla. Los directores de la tesis doctoral han sido: Santiago Larregla del Palacio y Carlos Garbisu Crespo.

Para adquirir la suficiencia investigadora requerida para poder presentar la tesis doctoral se requieren 60 créditos. Durante el año 2007, en correspondencia con el curso académico 2007/2008 Dª Mireia Nuñez Zofío cursó 40,5 créditos del Máster en Agrobiología Ambiental, impartido por el Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Universidad del País Vasco y de la Universidad de Navarra. Durante el año 2008, ha realizado un trabajo de investigación que se presentó y defendió ante un tribunal en el Dpto. de Biología Vegetal y Ecología de la Universidad del País Vasco en Septiembre del año 2008 con el que obtuvo los 19,5 créditos prácticos restantes.

La beca finalizó el 08-01-2011.

Tesis doctoral

A la fecha de redacción de este informe, Mireia Nuñez Zofío ya ha defendido su tesis doctoral.

Título Tesis doctoral: "Evaluación de la biodesinfección para el control de Phytophthora capsici en el cultivo de pimiento en invernadero"

Centro de desarrollo: NEIKER-Tecnalia, CAPV. Beneficiaria: Dª Mireia Núñez

Fecha de defensa tesis doctoral: 17-01-2012, Universidad del País Vasco.

Calificación: Sobresaliente cum laude por unanimidad.

Directores de tesis: Santiago Larregla del Palacio y Carlos Garbisu Crespo

5. DESVIACIONES CON RESPECTO A LA MEMORIA DEL PROYECTO

Incluir en este apartado sólo las relativas al plan de trabajo

Representante Legal del Centro:

Fecha:

Jefe de Proyecto:
Santiago Larregla

Fecha: 30-03-2012