



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

Máster en Ingeniería Agronómica

Eficacia de la biodesinfección de suelos de invernadero de Almería sobre la microbiota edáfica, en función de las fechas y tiempos de aplicación.

Jezabel Del Carmen Jiménez Rodríguez

Almería, Septiembre de 2019

Directores:

Dr. D. Julio César Tello Marquina

Dr. D. José Ignacio Marín Guirao

Agradecimientos.

Gracias al Dr. D. Julio César Tello Marquina por darme de nuevo la oportunidad de realizar un nuevo proyecto junto a él y cederme un trocito de su infinita sabiduría.

Gracias al Dr. D. José Ignacio Marín Guirao por su paciencia y su dedicación. Nada de esto hubiese sido posible sin ti. Un placer haber trabajado a tu lado.

Gracias a todos los componentes del grupo de investigación AGR-200. Sois excelentes.

Gracias a mi abuela por su insistencia y ánimos día tras día.

Y por supuesto gracias a mis padres siempre.

ÍNDICE

ÍNDICE

1. Interés y Objetivos.	11
1.1. Interés del estudio. Justificación.....	11
1.2. Objetivos.	13
2. Revisión bibliográfica.	17
2.1. El papel de la materia orgánica y la microbiota edáfica en la fertilidad del suelo.	17
2.1.1. Indicadores de fertilidad del suelo y su relación con los microorganismos del suelo.....	19
2.1.2. Influencia de las prácticas agrícolas en las comunidades microbianas del suelo.....	20
2.2. Biodesinfección de suelos: aplicación de enmiendas orgánicas como medida de desinfección de suelos agrícolas.	22
2.3. Estudios precedentes del grupo de investigación Producción Vegetal en Sistemas de Cultivos Mediterráneos (AGR200) de la Universidad de Almería.....	26
2.3.1. Estudios sobre la repercusión de la adición de materia orgánica en la microbiota edáfica de suelos de cultivos de alto rendimiento.	27
3. Materiales y métodos.	33
3.1. Localización y descripción de los invernaderos.	33
3.2. Diseño experimental.	33
3.3. Realización de los tratamientos de biodesinfección.	34
3.3.1. Fechas de los tratamientos.	35
3.4. Material vegetal.	35
3.5. Muestras de suelo.	36
3.6. Evaluación de la microbiota fúngica, bacteriana y oomicetos.....	36
3.6.1. Preparación de las muestras para el análisis microbiológico.	36
3.6.2. Métodos analíticos.....	37
3.7. Análisis de datos.....	39

4.Resultados.....	43
4.1. Microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) en los Invernaderos 1 y 2 antes de la realización de los tratamientos de biodesinfección.....	43
4.2. Efecto de los tratamientos de biodesinfección sobre la microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos). Microbiota edáfica tras los tratamientos de biodesinfección, al finalizar los cultivos comerciales y variación a lo largo del ensayo.	45
4.2.1. Invernadero 1.....	45
4.2.2. Invernadero 2.....	56
5.Discusión.	71
6. Conclusiones.....	77
7. Bibliografía.....	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de los tratamientos en los invernaderos 1 (A) y 2 (B).....	34
Figura 2. Proceso de incorporación de los restos vegetales mediante biosolarización. Triturado del material (A), distribución (B), homogenización (C) y puesta de cubierta plástica (D).....	35
Figura 3. Recogida de muestras de suelo(A), secado de las muestras en el laboratorio (B) y tamizado de las muestras (C).....	37
Figura 4. Proceso de realización de las diluciones sucesivas con muestras de suelo. Adición de muestra en agua estéril (A) e imagen de las diluciones finales (B).....	38
Figura 5. Placas de Petri empleadas en los análisis de microbiota total (hongos y bacterias) (A) y expresión analítica de la microbiota fúngica de una de las muestras de suelo analizadas(B).....	38
Figura 6. Detalle de placa de Petri con muestra de suelo y pétalos de clavel inmaduros (A) e incubación de muestras para su posterior lectura (B).....	39
Figura 7. Expresión gráfica global de hongos (A) y bacterias (B) en las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del <u>Invernadero 1</u> . Los resultados (promedio±desviación estándar x 10 ³ U.F.C. g ⁻¹ suelo) corresponden al muestreo realizado <u>inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección</u> . T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m ⁻² estiércol + 0,1 kg m ⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m ⁻² restos de cosecha.....	46
Figura 8. Expresión gráfica global de hongos (A) y bacterias (B) en las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del <u>Invernadero 1</u> . Los resultados (promedio±desviación estándar x 10 ³ U.F.C. g ⁻¹ suelo) corresponden al muestreo realizado <u>al finalizar el ciclo de cultivo de pepino</u> . T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m ⁻² estiércol + 0,1 kg m ⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m ⁻² restos de cosecha.....	49

Figura 9. Expresión gráfica del número de géneros fúngicos (A). Los resultados (promedio±desviación estándar) corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pepino en el Invernadero 1. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha; No solariz: T1 sin solarización.....50

Figura 10. Variación de la microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) en función de las distintas enmiendas orgánicas adicionadas mediante biosolarización en el Invernadero 1. Variación de la densidad total de hongos (A), variación de la diversidad de hongos (B), variación de la densidad total de bacterias (C), y variación de la presencia de oomicetos (D). Valores (media ± desviación estándar) expresados antes y después de los tratamientos, y al finalizar el ciclo de cultivo de pepino. Diferentes letras denotan diferencias estadísticas ($p<0,05$) mediante el test de las mínimas diferencias significativas de Fisher (LSD).....55

Figura 11. Expresión gráfica global de hongos (A) y bacterias (B) en las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados (promedio±desviación estándar x 10⁴ U.F.C. g⁻¹ suelo) corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.....57

Figura 12. Expresión gráfica global de hongos (A) y bacterias (B) en las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados (promedio±desviación estándar x 10⁴ U.F.C. g⁻¹ suelo) corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pimiento. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.....61

Figura 13. Expresión gráfica del número de géneros fúngicos (A). Los resultados (promedio±desviación estándar) corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pimiento en el Invernadero 2. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1:

5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.....65

Figura 14. Variación de la microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) en función de las distintas enmiendas orgánicas adicionadas mediante biosolarización en el Invernadero 2. Variación de la densidad total de hongos (A), variación de la diversidad de hongos (B), variación de la densidad total de bacterias (C), y variación de la presencia de oomicetos (D). Valores (media ± desviación estándar) expresados antes y después de los tratamientos, y al finalizar el ciclo de cultivo de pepino. Diferentes letras denotan diferencias estadísticas ($p < 0,05$) mediante el test de las mínimas diferencias significativas de Fisher (LSD).....67

Eficacia de la biodesinfección de suelos de invernadero de Almería sobre la microbiota edáfica, en función de las fechas y tiempos de aplicación.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cuantificación del inóculo de microbiota total (hongos y bacterias) en las muestras de suelo de los dos invernaderos al inicio de los ensayos (UFC·g ⁻¹ suelo).....	44
Tabla 2. Presencia de oomicetos en las muestras de suelo de los dos invernaderos al inicio de los ensayos.....	45
Tabla 3. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del <u>Invernadero 1</u> . Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10 ³ U.F.C. g ⁻¹ corresponden al muestreo realizado <u>inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección</u> . T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m ⁻² estiércol + 0,1 kg m ⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m ⁻² restos de cosecha...	48
Tabla 4. Presencia de oomicetos en muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del <u>Invernadero 1</u> . Los resultados corresponden al muestreo realizado <u>inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección</u> . T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m ⁻² estiércol + 0,1 kg m ⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m ⁻² restos de cosecha.....	47
Tabla 5. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del <u>Invernadero 1</u> . Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10 ³ U.F.C. g ⁻¹ corresponden al muestreo realizado <u>al finalizar el ciclo de cultivo de pepino</u> . T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m ⁻² estiércol + 0,1 kg m ⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m ⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m ⁻² restos de cosecha.....	51
Tabla 5. (Continuación)	52
Tabla 6. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas del <u>Invernadero 1</u> que recibieron las mismas enmiendas orgánicas que el tratamiento T1 (i.e. 5kg m ⁻² estiércol + 0,1 kg m ⁻² harina de pluma) pero no fueron solarizadas . Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10 ⁴ U.F.C. g ⁻¹ <u>corresponden al muestreo realizado al finalizar el ciclo de cultivo de pepino</u>	53
Tabla 7. Presencia de oomicetos en muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del <u>Invernadero 1</u> . Los resultados corresponden al muestreo realizado <u>al</u>	

finalizar el cultivo de pepino. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.....54

Tabla 8. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10³ U.F.C. g⁻¹ corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.....58

Tabla 8. (Continuación).....59

Tabla 9. Presencia de oomicetos en muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del invernadero 2. Los resultados corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.....60

Tabla 10. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10³ U.F.C. g⁻¹ corresponden al muestreo realizado al finalizar el ciclo de cultivo de pimiento. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.....62

Tabla 10. (Continuación).....63

Tabla 10. (Continuación).....64

Tabla 11. Presencia de oomicetos en muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pimiento. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.....66

INTERÉS Y OBJETIVOS

1. Interés y Objetivos.

1.1. Interés del estudio. Justificación.

La fertilidad del suelo está definida por tres componentes: físico, químico y biológico (Hijbeek *et al.*, 2017), que están fuertemente relacionados. Refiriéndonos a la fertilidad biológica, que depende de las comunidades macro y microscópicas, debe considerarse que las comunidades microbianas del suelo juegan un papel esencial, de manera simultánea, en el mantenimiento de múltiples funciones ecosistémicas y servicios (*i.e.* multifuncionalidad). En este sentido, la diversidad microbiana interviene de manera activa en la descomposición de materiales orgánicos, en la mineralización de la Materia Orgánica del Suelo (MOS), así como en otras transformaciones químicas en los suelos, procesos todos ellos que permiten la transferencia de materia y energía entre las comunidades biológicas establecidas sobre y bajo el suelo (Hooper *et al.*, 2000; Murphy *et al.*, 2007; Wardle *et al.*, 2004). De este modo, los microorganismos son actores esenciales en la disponibilidad de nutrientes y la producción de material vegetal, que son considerados como los servicios más importantes para el mantenimiento del bienestar humano (Bardgett y van der Putten, 2014; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2015). Es por ello que, numerosos autores afirman que los microorganismos edáficos son esenciales para una correcta fertilidad de los suelos que permita optimizar la producción de los cultivos (Pankhurst y Lynch, 1995; Marín-Guirao y Tello, 2017). Así, la riqueza y la diversidad de especies microbianas habitantes del suelo son considerados como valiosos indicadores de la fertilidad del suelo en los sistemas agrarios (Siciliano *et al.*, 2014; Marín-Guirao *et al.*, 2019).

Entre la amplia diversidad de microorganismos incluidos en las comunidades microbianas del suelo, hay muestras de que los hongos están directamente relacionados con la fertilidad del suelo (Pankhurst y Lynch, 1995; Siciliano *et al.*, 2014). En éste sentido, los hongos son esenciales en la formación y estabilización de los agregados del suelo (Lucas *et al.*, 2014; Tisdall, 1991), que tiene una estrecha relación con la fertilidad del mismo. Tanto los hongos, como el resto de los microorganismos del suelo, dependen de la disponibilidad de alimento, particularmente de los niveles de MOS (Reeves, 1997; Tiessen *et al.*, 1994). La MOS es considerada uno de los principales componentes de calidad del suelo, porque contribuye, directa o indirectamente, en sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Al respecto, la gran relevancia de los microorganismos del suelo en los procesos de descomposición y mineralización de la

MOS ha sido reportada en numerosos escritos, en los que los autores afirman y aseveran que, la fertilidad del suelo debe mantenerse y/o mejorarse mediante la adición de enmiendas orgánicas (Diacono y Montemurro, 2010; Reeves, 1997). Por consiguiente, la incorporación de enmiendas orgánicas al suelo genera beneficios a los cultivos (Diacono y Montemurro, 2010; Gamliel y Van Bruggen, 2016; Lucas *et al.*, 2014). Sin embargo, el incremento en el uso de fertilizantes de origen mineral, en detrimento de la incorporación de materiales orgánicos al suelo, ha resultado en un empobrecimiento de los mismos. Como consecuencia, en las últimas décadas se están reportando reducciones en los rendimientos de monocultivos bajo fertilización intensiva, mediante el empleo de abonos de síntesis, y que no incorporan al suelo enmiendas orgánicas. Tal es el caso de la producción hortícola intensiva bajo abrigo, o en invernadero (Guerrero *et al.*, 2004). Esta reducción en el rendimiento de los cultivos es debida, probablemente, a un “desorden” de la fertilidad del suelo que es conocida por diversos autores como “fatiga de suelo” (Guerrero *et al.*, 2014; Marín-Guirao y Tello, 2017; Tello *et al.*, 2004). La fatiga del suelo es considerado un concepto agronómico complejo, y definido por diversos autores como una “perturbación de la fertilidad de los suelos debido a causas múltiples que pueden ser en el campo acumulativas, sucesivas o simultáneas” (Bouhot 1983) que provoca una reducción parcial de la productividad y, para algunos autores es atribuida principalmente al monocultivo reiterado en una misma parcela. Sin embargo, la fatiga de suelos agrícolas es un fenómeno altamente complejo, que puede presentar una componente física, química y/o biológica como principal causa en la expresión del mismo. En base a la experiencia adquirida en investigaciones previas a la que a continuación se muestra en éste manuscrito, se sugiere que el fenómeno podría estar fuertemente relacionado con la microbiota del suelo, principalmente con la fracción fúngica (Marín-Guirao y Tello, 2017; Martínez *et al.*, 2009). Como complemento, un estudio recientemente publicado (Marín-Guirao *et al.*, 2019), en el que se consideraron 40 suelos de invernadero de la provincia de Granada en los que se habían llevado a cabo monocultivos, bien de tomate o de pepino, durante al menos 10 años consecutivos, y en los que no había uniformidad en el manejo de la MOS, muestra que los principales parámetros de vigor de las plantas de tomate y pepino tuvieron una correlación positiva con la MOS, y con la diversidad de hongos. De éste modo, y en consonancia con el texto precedente a éste, el estudio concluye que la MOS es clave para mantener la fertilidad del suelo en horticultura intensiva, y que ésta se encuentra vinculada con la composición y diversidad de la comunidad fúngica de los suelos. Así mismo debe

considerarse otro estudio reciente (García-Raya *et al.*, 2019), que tuvo como objetivo evaluar la adición de los restos vegetales del cultivo de tomate mediante la técnica de biosolarización de suelos como fertilizante, para comprobar si se trataba de un soporte nutritivo apto para desarrollar un cultivo de tomate comercial en un sistema de producción intensivo (producción bajo invernadero), en comparación con una fertilización exclusiva a base de fertilizantes minerales de síntesis. El estudio concluye que, en un ciclo corto de tomate, la adición de los restos vegetales frescos (*i.e.* 3,5 kg·m⁻²) mediante biosolarización fue suficiente para alcanzar una producción similar a la alcanzada mediante fertilización inorgánica, sin encontrar tampoco diferencias en los parámetros de calidad de los frutos de tomate. A la luz de estos últimos resultados, la aplicación de restos de cosecha al suelo mediante biosolarización se postula como una alternativa al manejo de los restos de cosecha procedentes de invernadero, ayudando a solventar un problema ambiental actual de gran envergadura, y repercutiendo favorablemente en la producción y calidad de un cultivo hortícola comercial.

Por todo lo anteriormente expuesto, resulta interesante conocer los efectos de la adición de restos vegetales frescos mediante biosolarización de suelos, sobre la microbiota edáfica, para determinar si la comunidad microbiana del suelo es modificada.

1.2. Objetivos.

El objetivo general de los experimentos incluidos en este trabajo consiste en la evaluación de la incidencia de la técnica de biosolarización de suelos agrícolas empleando los restos vegetales del cultivo anterior de pimiento, sobre la microbiota fúngica y bacteriana, y los oomicetos del suelo, en función de las fechas y tiempos de aplicación. Para ello, los tratamientos de biosolarización se realizaron en dos invernaderos, en diferentes fechas y con distintos tiempos de aplicación. Con ello, se pretende determinar, mediante identificación morfológica a escala de género, si la comunidad fúngica del suelo es modificada, y en el caso afirmativo, conocer en qué sentido ocurre dicha modificación. Para conseguir este fin, se han abordado los siguientes objetivos específicos:

1. Cuantificación e identificación de la microbiota fúngica antes de realizar los tratamientos de biosolarización, inmediatamente a continuación de los mismos, y a la finalización de los cultivos comerciales desarrollados tras los tratamientos.

2. Cuantificación de la microbiota bacteriana antes de realizar los tratamientos de biosolarización, inmediatamente a continuación de los mismos, y a la finalización de los cultivos comerciales desarrollados tras los tratamientos.

3. Evaluación de la presencia de oomicetos antes de realizar los tratamientos de biosolarización, inmediatamente a continuación de los mismos, y a la finalización de los cultivos comerciales desarrollados tras los tratamientos.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. Revisión bibliográfica.

2.1. El papel de la materia orgánica y la microbiota edáfica en la fertilidad del suelo.

El suelo está constituido por una fracción mineral y una fracción orgánica, ésta última constituida a su vez por materiales vivos y muertos de origen vegetal y animal que conforman la materia orgánica del suelo (Fitz, 1980). En este sentido, es muy importante considerar que la gran cantidad y diversidad de organismos habitantes del suelo, lo convierten en un “ente vivo” (Tello *et al.*, 2011). Por ello, el suelo debe percibirse como un ecosistema complejo que presenta unas características propias, y en el que se producen una serie de procesos fundamentales debidos a las actividades desempeñadas por el componente biótico.

Tradicionalmente la salud del suelo se ha determinado mediante la cuantificación de propiedades físicas y químicas (componente abiótico), ignorando las propiedades biológicas. Los organismos del suelo, sin embargo, actúan como la fuerza vital del ecosistema edáfico, siendo clave en los procesos reguladores del reciclaje de nutrientes y la descomposición de los residuos orgánicos (Pankhurst *et al.*, 1997). En concreto, el 80-90% de la actividad biológica de los suelos es debida al componente microbiano (bacterias y hongos, en su mayoría), que representa el 70-85% de la biomasa de los organismos edáficos (Mijangos, 2009). Además, la actividad de la microbiota edáfica afecta a las propiedades físico-químicas del suelo, que guardan una estrecha relación con los agregados del mismo.

Un claro ejemplo es su influencia en la formación de agregados en el suelo, mediatizada por diversos microorganismos edáficos que se estimula con la presencia de partículas de materia orgánica que incrementan la actividad microbiana. De ésta manera, la incorporación de enmiendas orgánicas ricas en carbono lábil provocan un rápido incremento de la actividad microbiana, a la vez que un incremento en la estabilidad de los agregados (Martens, 2000; Abiven *et al.*, 2007). Debe tenerse en cuenta que, la dinámica de formación de los agregados puede estar asociada a un conjunto particular de microorganismos dentro de la comunidad presente en el ambiente suelo, y que este conjunto puede ser muy diverso, y a la vez específico de las condiciones concretas del sistema considerado. Esta complejidad queda patente en la disparidad de resultados obtenidos en los trabajos científicos que abordan esta relación (Drury *et al.*, 1991; Carter *et al.*, 1994; Chantigny *et al.*, 1997) y que sugieren que la

presencia y actividad de determinados grupos de microorganismos puede ser en sí más importante que la dimensión de la biomasa microbiana en su total. Junto con los hongos, las bacterias también han sido identificadas como microorganismos implicados en la formación de agregados, atribuyéndoseles una posible intervención en espacios a distinta escala microscópica, dado que las proporciones de hongos y bacterias son diferentes en agregados de distintos tamaños (Gupta y Germida, 1988).

Además de en la formación de agregados, la microbiota edáfica y la materia orgánica interviene en la retención de nitratos. La mineralización del nitrógeno presente en la materia orgánica ocurre a través de los procesos de amonificación y nitrificación, tras los cuales el nitrógeno queda en forma de nitrato (NO_3^-) con elevada movilidad. Este proceso depende de la cantidad y calidad de la materia orgánica no humificada, en especial la relación C/N, y se encuentra mediado por los microorganismos del suelo (Haynes, 1986). De forma contraria, la inmovilización del nitrógeno, proceso inverso y simultáneo a la mineralización, y mediatizado a su vez por la microbiota edáfica contribuye eficazmente al reservorio de nutrientes móviles del suelo como es el caso de los nitratos. En relación con lo anteriormente expuesto, Haynes (1986) menciona que aproximadamente el 50% del N amonificado es inmovilizado por la biomasa microbiana, atribuyendo los problemas por lixiviado de nitratos a la carencia o alteración de la fracción microbiana del suelo, y en consecuencia con el contenido de materia orgánica, que a su vez confieren fertilidad a las tierras cultivadas. Al respecto, la carencia crónica de materia orgánica en el suelo tiene una relación nítida con los fenómenos de nitrificación. Por consiguiente, durante los períodos en los que la actividad de los microorganismos y las demandas de los cultivos no son suficientes para inmovilizar o retener el nitrógeno presente en el suelo, hay un mayor riesgo de lixiviación de nitratos por debajo de la zona radicular del cultivo. Así, la aplicación al suelo de enmiendas orgánicas podría contribuir a minimizar problemas ambientales producidos por la acumulación y lixiviado de nitratos.

Una muestra evidente de la importancia e influencia de la adición de enmiendas orgánicas sobre la microbiota edáfica, y en consecuencia, sobre la formación de agregados en el suelo y la retención de nitratos, la encontramos en diversos estudios en los que el aumento de biomasa fúngica se producía de forma paralela al incremento de ésteres metílicos de ácidos grasos microbianos (*i.e.* biomarcadores FAMES; Carrera *et al.*, 2007; Larkin *et al.*, 2011; Schutter *et al.*, 2001), así como, incremento de las poblaciones bacterianas tras la adición de estiércol (Larkin *et al.*, 2006).

De ésta manera, la materia orgánica del suelo desempeña un papel decisivo en su fertilidad, mejorando sus propiedades físicas (estructura, penetración y retención de agua), su capacidad de intercambio catiónico y sus propiedades coloidales, a la vez que reduce su erosión y riesgo de lixiviados, incrementando la diversidad de microorganismos que en el habitan (Bronick y Lal, 2005; Labrador, 2001; Marín-Guirao et al., 2019; Plaster 2005, Rosen y Allan, 2007).

2.1.1. Indicadores de fertilidad del suelo y su relación con los microorganismos del suelo.

Los microorganismos son un vínculo crucial entre la disponibilidad de nutrientes del suelo y la productividad de las plantas, y por lo tanto se consideran esenciales para mantener, e incluso para mejorar, la fertilidad del suelo agrícola y la producción de cultivos (Pankhurst y Lynch, 1995; Tikhonovich y Provorov, 2011; Watt, Kirkegaard, y Passioura, 2006). Por estas razones, la riqueza de especies de microbios edáficos y la diversidad puede ser un indicador razonable de la fertilidad del suelo en agroecosistemas.

Entre los indicadores biológicos, las medidas que aportan información sobre la actividad, diversidad y biomasa, de las comunidades microbianas edáficas presentan un enorme potencial como indicadores de la calidad del suelo (Mijangos *et al.*, 2006) y en consecuencia de la fertilidad del mismo.

Como indicadores de actividad microbiana se encuentran las actividades enzimáticas, las enzimas del suelo, en particular las oxidoreductasas e hidrolasas, desempeñan un papel fundamental en la evolución y procesos degradativos de la materia orgánica. La materia orgánica adicionada puede potenciar la actividad microbiana y, en definitiva, los niveles de actividad enzimática (Hattori, 1988). Otros parámetros son la respiración basal del suelo y el nitrógenos mineralizable. Este último hace referencia a la capacidad de los suelos para transformar compuestos orgánicos de nitrógeno en formas minerales como amonio y nitrato, bajo condiciones óptimas de humedad y temperatura y en un periodo de tiempo determinado (Keeney, 1982). Es por ello que este parámetro es considerado indicador de la fertilidad y productividad de los suelo forestales y agrícolas, así como un indicador de la actividad y calidad de la materia orgánica del suelo.

En cuanto a indicadores de diversidad microbiana, en términos clásicos la biodiversidad se ha descrito en función de dos componentes: (i) número total de especies presentes (riqueza o abundancia de especies) y (ii) distribución de individuos

entre especies (uniformidad o equitabilidad). El índice de Shannon es probablemente el más utilizado para medir la diversidad de especies.

En lo que se refiere a los indicadores de biomasa microbiana, está la determinación del carbono de la biomasa microbiana. Según Paul y Voroney (1989) la importancia de su determinación es debida al papel fundamental que juegan los microorganismos del suelo en la retención y liberación de nutrientes y energía en el sistema suelo. Ciertamente, la biomasa microbiana es la principal responsable de la descomposición de los residuos orgánicos, los ciclos de nutrientes y el flujo de energía dentro del ecosistema suelo. Los niveles de biomasa microbiana de un suelo se ven afectados por la cantidad y calidad de la materia orgánica. La biomasa microbiana responde con gran rapidez a las alteraciones y condiciones de estrés causadas en el suelo por las actividades humanas (Wardle, 1992).

2.1.2. Influencia de las prácticas agrícolas en las comunidades microbianas del suelo.

En el siglo XX, la humanidad movió montañas y se convirtió por primera vez en un agente geológico importante. El suelo es el espacio en que hemos influido de manera más determinante: hemos degradado y hemos enriquecido el sustrato de la civilización, de modo que algunos suelos no han tardado en perder cualquier capacidad de producción, mientras que otros parecen haber sido por fin capaces de generar, si no cualquier cosa, al menos una gran cantidad de productos. (Hurtado, 2015)

La agricultura, tal y como se viene practicando en los países más desarrollados en sus formas más intensivas, es una actividad de enorme impacto ambiental que contamina el aire y el agua, deteriora los suelos, reduce la biodiversidad, etc. (Boixadera y Teira, 2001).

En los agro-sistemas, el flujo de energía es alterado con la intervención humana, estableciendo un régimen de entradas de energía según las necesidades externas al sistema. A su vez, hay que añadir fuentes auxiliares de energía, que pueden ser de origen animal, humano o combustible para así, aumentar su producción. De esta forma, los agro-sistemas se transforman en sistemas abiertos no autosostenibles debido a que se pierde una gran cantidad de energía que no queda acumulada en forma de biomasa para consumo interno del sistema. Estos ‘nuevos’ sistemas agrícolas (agro-industria) difieren de los naturales en su estructura, su estabilidad y en su funcionalidad, siguiendo un

gradiente que responde a la intensidad de la alteración producida y a la capacidad del medio para adecuarse y responder a esa alteración. (Hurtado, 2015).

En los agro-sistemas el ciclo de nutrientes es mínimo y una gran cantidad de elementos son perdidos debido a las extracciones de la cosecha, que finalmente no son repuestos. Únicamente, estas pérdidas son sustituidas por pequeños aportes externos que no presentan una relación adecuada ni en cantidad ni calidad. En este entramado de ciclos, la microbiota edáfica, presenta una enorme importancia a la hora de determinar el movimiento de nutrientes y su distribución, pero ante este balance negativo entre entradas y salidas de nutrientes orgánicos, fomentamos la disminución de diversidad microbiana. Por lo tanto, es de especial importancia favorecer las condiciones que establezcan una riqueza microbiana en los agro-sistemas, debido a que, esta pérdida de biodiversidad y reducción de las interacciones tróficas desencadena un panorama en el que las poblaciones son raramente regulables y la gran simplificación que lleva unida la pérdida de biodiversidad, aumenta el problema de la aparición de determinadas plagas y enfermedades.

Por lo tanto, podemos establecer una relación directa entre el manejo de las prácticas agrícolas y la microbiota edáfica de la explotación. Rodríguez Molina (1996), estudió las relaciones existentes entre el tipo de cultivo (cerezo, esparrago, tabaco, etc.) o cubierta vegetal que soporta el suelo y las poblaciones de *Fusarium* que se encuentran en el suelo. Dicho trabajo presenta las diferencias encontradas en las unidades formadoras de colonia en función del cultivo. Los valores más altos se encontraron en cultivos de cerezo. Para el caso de las muestras de cultivo de tabaco, la que presentó un valor mayor fue tomada de una parcela en la que se acababa de enterrar rastrojo como enmienda orgánica. A su vez, suelos que habían presenciado rotación de cultivos se caracterizaban por tener una mayor diversidad de géneros fúngicos.

Diversos trabajos han abordado el efecto de las prácticas agrícolas en la comunidad microbiana del suelo (Bonanomi *et al.*, 2010; Pérez-Brandán *et al.*, 2013). En todos ellos se puede observar el efecto negativo presente en explotaciones intensivas con un manejo de monocultivo durante más de diez años consecutivos, sin realizar aportes de materia orgánica. Estos efectos negativos se traducen en una reducción del carbono de la biomasa microbiana (MBC por sus siglas en inglés), la estabilidad de agregados, así como el contenido en materia orgánica, imprescindible para un suelo saludable. También se observaron aumentos en las incidencias de enfermedades en suelos donde se practicaba monocultivo respecto a un sistema de rotación y aumentos en la población de

agentes de biocontrol (*Trichoderma spp.*, *Gliocladium spp.*, *Pseudomonas fluorescense*) en suelos rotatorios. Además, un estudio más reciente (Marín-Guirao y Tello-Marquina, 2017) concluye la presencia del fenómeno de fatiga en un suelo que había practicado el monocultivo de pepino durante catorce años, sin aplicación alguna de materia orgánica al suelo, mientras que el suelo que había sostenido monocultivo de tomate durante más de diez años, no expresó el efecto depresivo en planta asociado al fenómeno de fatiga, posiblemente debido a que el productor incorporaba enmiendas orgánicas de manera reiterada en el tiempo. Otro estudio sobre el efecto que tiene el laboreo en la materia orgánica del suelo, así como en la microbiota fúngica del mismo, elaborado durante veintitrés años consecutivos, demostró como el empleo del laboreo convencional reducía considerablemente la cantidad de carbono orgánico, repercutiendo, así, negativamente en la microbiota fúngica, la cual depende de ella para su desarrollo en el suelo (Handayani, 1996).

Así mismo, los aportes de materia orgánica han sido propuestos como sistema de control frente a enfermedades del suelo (Baker y Cook, 1974; Hoitink y Fahy, 1986). En este sentido, se han obtenido diversos resultados asociados a la capacidad supresora de enfermedades del suelo. Lumsden *et al.*, (1983) para el caso de *Aphanomyces euteiches*, Lodha (1995) obtuvo una disminución en la presencia de *Macrophomina phaseolina*. Papavizas y Davey (1960) para la especie *Rhizoctonia solani*. También se produjo una supresión en otros géneros de hongos como *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Sclerotinia* y *Sclerotium* (Szczecz, 1999; Szczecz y Smolinska, 2001; McKellar y Nelson, 2003; Lumsden *et al.*, 1983; Noble y Covenry, 2005).

2.2. Biodesinfección de suelos: aplicación de enmiendas orgánicas como medida de desinfección de suelos agrícolas.

La desinfección del suelo se practica en agricultura para controlar los patógenos edáficos. Se emplea, normalmente, en cultivos protegidos de gran valor añadido (Katan, 2005) y algunas veces al aire libre. La necesidad de desinfectar los suelos deriva también del hecho de la reiteración del mismo cultivo en el mismo suelo, lo que provoca alteraciones en las características biológicas, químicas y físicas del suelo.

Entre los distintos métodos de desinfección, la biodesinfección de suelos mediante la incorporación al suelo de enmiendas orgánicas, con o sin posterior acolchado plástico (Katan, 1981; 1996), se presenta como una alternativa económicamente viable, respetuosa con el medioambiente, que está cada vez más y mejor considerada, por su

eficacia y por la creciente valoración que la sociedad tiene acerca de la sostenibilidad de los sistemas de producción.

Cuando hablamos de biodesinfección del suelo debemos considerar tres conceptos: biofumigación, solarización y biosolarización (que combina la biofumigación y la solarización):

Biofumigación.

Aunque en principio el término biofumigación se refería únicamente al efecto biofumigante de los restos vegetales de la familia *Brassicaceae*, Bello *et al.* (1999, 2000) ampliaron el término y definieron la biofumigación como “la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el manejo de los patógenos de las plantas”, asociando la actividad biofumigante a todo tipo de materia orgánica (estiércol, restos de cosecha, abonos verdes, etc.) y residuos agroindustriales (residuos de industria papelera, azucarera, etc.).

La materia orgánica, tras su incorporación en el suelo, sufre un proceso de biodegradación en el que se producen multitud de reacciones que generan compuestos que pueden resultar tóxicos para los patógenos edáficos (Lazarovits, 2004). Entre estos compuestos destaca el amoníaco (NH_3) por ser uno de los más estudiados en el caso de enmiendas orgánicas con alto contenido en nitrógeno, tales como estiércoles animales, harinas de sangre, de huesos, y tortas de semillas de cultivos oleaginosos (Bello *et al.*, 1999, 2000).

Se basa en los mismos principios que los fumigantes convencionales, sólo que, los gases generados proceden de la descomposición de la materia orgánica. Además, también se producen reacciones de oxidación-reducción que tienen efectos nocivos sobre los microorganismos patógenos o no (Block *et al.*, 2000). Estos autores reportan que el proceso vendría a quedar explicado así: en un suelo recientemente inundado, la tasa de consumo de oxígeno por parte de los microorganismos es más alta que la difusión y los microorganismos aerobios consumen todo el oxígeno, al agotarse éste, se reduce su población casi a cero y comienzan a aumentar los microorganismos anaerobios que llevan a cabo la descomposición de la materia orgánica utilizando compuestos oxidados del suelo (óxidos de manganeso, nitratos, etc.) para su respiración. La cantidad de oxígeno va disminuyendo desde la superficie del agua hasta las capas profundas del suelo. En la parte superior de un suelo cubierto por una lámina de agua encontramos una capa oxidada de suelo de más o menos 1 cm de espesor, donde la difusión del oxígeno es suficiente para el consumo de los microorganismos. Dentro de esta capa la

concentración de oxígeno en suelo no es constante, varía entre la saturación en la superficie hasta casi cero. Como resultado de estos procesos, suceden en el suelo cambios de pH, disminución del potencial redox y aumento de la conductividad eléctrica (Kjaer, 1976).

Según Bello *et al.* (2004), como consecuencia del proceso, incrementa el número de nematodos saprófagos, mejora las características del suelo y la nutrición de la planta y se producen una secuencia de cambios microbiológicos, con una proliferación de microorganismos inicial que depende de los recursos añadidos.

Solarización.

La solarización se define como la desinfección hidrotérmica del suelo empleando energía solar para calentarlo, previamente humedecido y cubierto con una lámina de polietileno transparente, en los meses de mayor calor durante un período que puede oscilar entre las 4 y 6 semanas, en función de la latitud (Cenis, 1988; Perdomo *et al.*, 2000).

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

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

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

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

A pesar de que son numerosos los estudios que han demostrado la eficacia de la técnica frente a multitud de patógenos edáficos (Katan y Devay, 1991), su alta dependencia de las condiciones climáticas hace que su aplicación quede restringida a zonas con climas áridos en los que se registran altas temperaturas y elevada radiación solar (Chellemi *et al.*, 1994).

Biosolarización (biofumigación + solarización)

La combinación de solarización con la aplicación de enmiendas orgánicas ejerce un efecto sinérgico cuya eficacia supera a la obtenida cuando ambas técnicas son aplicadas por separado. Los mecanismos a través de los cuales la eficacia de la biosolarización se ve aumentada se podrían resumir como sigue: la lamina de plástico, además de aumentar la temperatura del suelo, actúa como una barrera que retiene los gases que se producen durante la biodegradación de la materia orgánica aumentando, por tanto, el tiempo de exposición de los patógenos edáficos a los compuestos volátiles. Por otro lado, las altas temperaturas actúan de diferente forma: (i) produciendo un efecto letal o subletal en los patógenos, (ii) acelerando el proceso de biodegradación, (iii) aumentando la presión de vapor de los compuestos volátiles lo que permite que estos profundicen más en el suelo, y (iv) aumentando la concentración de amoníaco, ya que temperaturas por encima de 30°C disminuyen la actividad de las bacterias nitrificantes, la tasa de nitrificación y el pK_a del amoníaco (9,3 a 24°C y 8,5 a 50°C) (Gamliel *et al.*, 2000; Oka 2010).

La combinación de solarización con enmiendas orgánicas ha sido aplicada con éxito en el control de un amplio rango de patógenos edáficos, desde hongos (Gamliel y Stapleton, 1993; Ozores-Hampton *et al.*, 2005) hasta nematodos (Oka *et al.*, 2007), obteniéndose resultados satisfactorios incluso en zonas de clima templado (Chellemi *et al.*, 1997; Coelho *et al.*, 1999).

El término Biodesinfección se utilizó por primera vez en el informe del Comité para la Búsqueda de Alternativas al BrMe (Methyl Bromide Technical Options Committee, MBTOC, 2007) apareciendo como una tecnología no química para el control de enfermedades de cultivos en fincas pequeñas, y equiparándolo a la biofumigación. Aunque la biofumigación ha sido propuesta como un método biológico, en definitiva se basa en el control químico ya que son los productos resultantes de la degradación de la materia orgánica los responsables de ese control. Sin embargo, la materia orgánica no es tóxica por sí misma, sino que contribuye una fuente importante de nutrientes para los microorganismos saprófitos del suelo. De hecho, la aplicación de enmiendas orgánicas

promueve un aumento significativo de muchas poblaciones microbianas del suelo, mientras que las poblaciones de los organismos fitopatógenos decrecen sustancialmente. Este efecto es muy diferente al que ocurre en el suelo tras la aplicación de un fumigante de amplio espectro como puede ser el BrMe. Es por esto que el MBTOC considera que el término biodesinfección, es más apropiado que el de biofumigación, basándose en el hecho de que los procesos generados tras la aplicación de la materia orgánica no son letales frente a todos los organismos del suelo, sino que ejercen una acción selectiva frente a ciertas poblaciones microbianas.

Por tanto, la biodesinfección del suelo, mediante la incorporación de enmiendas orgánicas y la consiguiente aplicación o no de una cubierta plástica, tiene el potencial de aumentar el control de los patógenos edáficos y/o disminuir la incidencia de enfermedades de los cultivos a través de una variedad de mecanismos que incluyen el control químico (biofumigación) y el control biológico (Mazzola, 2004). Por un lado, el control químico, como se ha mencionado con anterioridad, viene mediado por la producción de compuestos tóxicos procedentes de la biodegradación de la materia orgánica que puede ocurrir tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. Por otro lado, en el control biológico juega un papel fundamental la microbiota edáfica que se ve estimulada por la aplicación de una fuente importante de nutrientes en la materia orgánica, y que contribuye a aumentar la capacidad supresora del suelo mediante mecanismos de control biológico. Estos son aspectos que aún necesitan ser abordados bajo la compleja perspectiva que el espacio microscópico en que se desarrollan los microorganismos requiere, y con la profundidad en que el grado de interacción de estos seres demanda. Así son necesarios más estudios que comiencen a enfocar los objetivos, en aspectos tales como la evaluación del efecto de la incorporación de distintas enmiendas orgánicas sobre distintas fracciones de la microbiota edáfica, así como su efecto en función de la cantidad adicionada, continuando con el extenso campo de estudio sobre la funcionalidad de éstos en el sistema suelo-fertilidad-planta, y en definitiva llegar a descifrar los verdaderos servicios que benefician a la fertilidad del suelo con su consiguiente mejora en el desarrollo de los cultivos.

2.3. Estudios precedentes del grupo de investigación Producción Vegetal en Sistemas de Cultivos Mediterráneos (AGR200) de la Universidad de Almería.

El grupo de investigación de la Universidad de Almería AGR200, en los últimos años ha realizado un amplio número de estudios enfocados a la evaluación del efecto de

diversas enmiendas orgánicas sobre el rendimiento de cultivos bajo invernadero, así como, sobre algunas fracciones de la microbiota edáfica (*i.e.* hongos, bacterias, oomicetos) de suelos cultivados.

2.3.1. Estudios sobre la repercusión de la adición de materia orgánica en la microbiota edáfica de suelos de cultivos de alto rendimiento.

En su Proyecto Fin de Carrera, Torrecillas (2016) evaluó el comportamiento de la diversidad y densidad de la microbiota edáfica durante un ciclo de cultivo de tomate, en un suelo arenado, tras la aplicación de diversas materias orgánicas mediante las técnicas de biofumigación y biosolarización. Para ese fin, llevó a cabo la cuantificación e identificación de la microbiota fúngica, la cuantificación de la microbiota bacteriana, así como, la evaluación de la presencia de oomicetos. Los resultados de éste estudio sugerían que, ambas técnicas de biodesinfección (biofumigación y biosolarización) tenían efecto desinfectante frente a hongos, bacterias y oomicetos. Del mismo modo, se planteaba la hipótesis de que el suelo arenado podía hacer el papel del plástico en solarización actuando como desinfectante del suelo aún sin aporte de materia orgánica, ya que en los suelos de los tratamientos que no recibieron aportes orgánicos ni tampoco solarización, también se produjo un descenso de la microbiota evaluada. Por otro lado, los géneros de hongos presentes de manera continua en todos los muestreos realizados a lo largo del cultivo fueron *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp y *Penicillium* spp. Este estudio no encontró una interpretación a las variaciones de la microbiota fúngica y bacteriana a lo largo del cultivo de tomate.

Pérez (2014) en su trabajo fin de carrera evaluó el comportamiento de la microbiota fúngica, bacteriana y oomicetos del suelo durante un ciclo de cultivo de sandía, en el mismo suelo arenado que Torrecillas (2016), tras la aplicación de diversas materias orgánicas mediante las técnicas de biofumigación y biosolarización y precedido de un ciclo corto de tomate. Las conclusiones de este trabajo se presentan a continuación:

La entrada del cultivo incrementó, de forma generalizada, el número de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) de hongos, así como el número de géneros aislados para todos los suelos muestreados

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

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

No se encontró una interpretación a las variaciones de la microbiota fúngica y bacteriana a lo largo del periodo considerado. No se encontró relación ni con el régimen de riego, ni con el abonado, ni con otras prácticas culturales a lo largo del cultivo.

En la misma línea de trabajo, Ruíz (2017) evaluó, a lo largo de dos ciclos largos de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tipo rama cv. Pitenza, el efecto sobre los microorganismos edáficos (*i.e.* hongos, bacterias y oomicetos) de la incorporación mediante biosolarización de restos vegetales de plantas de tomate a distintas dosis, acompañado en algunos tratamientos con Biofence® (pellets de *Brassica carinata*), así como un tratamiento fertirrigado y un tratamiento control que tan solo recibía agua durante los cultivos. Las conclusiones de éste trabajo fueron las que se exponen a continuación:

La aplicación de materia orgánica aumentó las poblaciones de bacterias, hongos y microbiota fusárica en el suelo.

A lo largo del desarrollo del cultivo se recompuso la microbiota edáfica tal y como antes de ser aplicada la desinfección en el suelo.

La biosolarización y la solarización disminuyen la presencia de microorganismos en el análisis llegando al cero analítico para los hongos del género *Fusarium*.

La aplicación de la materia orgánica aumentó el contenido de materia orgánica en el suelo, aunque no tanto como era esperable, pero aparentando tener una correlación con el aumento de la microbiota del suelo.

En éste sentido, y de acuerdo con los resultados obtenidos en los trabajos mostrados anteriormente, Hurtado (2015) evaluó la diversidad fúngica y el contenido en materia orgánica de 44 suelos de invernadero que sostienen cultivos de pepino y de tomate en la provincia de Granada, con objetivo de encontrar una relación entre la materia orgánica del suelo y la diversidad fúngica que contiene. Él estudió concluyó que a mayor contenido de materia orgánica en el suelo, la densidad y diversidad de géneros fúngicos era también superior. Tanto en suelos enmendados con materia orgánica, como en suelos no enmendados se repitieron una serie de géneros fúngicos (*Aspergillus* sp., *Acremonium* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Mucor* sp. y *Penicillium* sp.).

En otro estudio, Marín-Guirao y Tello-Marquina (2017) consideraron el suelo de dos invernaderos, en los que durante más de 14 años se venía practicando el monocultivo

reiterado de pepino y tomate, respectivamente. Además del tipo de cultivo que sostenían, la principal diferencia radicaba en que, en el primer caso (*i.e.* suelo de invernadero con monocultivo de pepino) el suelo nunca había recibido ningún aporte orgánico, mientras que el suelo del invernadero con monocultivo de tomate recibía aportes de estiércol y restos de cosecha todos los años. En éste estudio los autores evaluaron tanto el contenido en Materia Orgánica (MO) de los suelos, como su microbiota edáfica (*i.e.* hongos, bacterias y oomicetos) y el vigor de plántulas de tomate y pepino crecidas en cámara de ambiente controlado. Los resultados muestran un mayor contenido de MO en el suelo del monocultivo de tomate, en conjunto con una mayor densidad de hongos y diversidad de géneros fúngicos. Además, las plántulas crecidas en éste suelo mostraron un vigor significativamente mayor para las dos especies hortícolas evaluadas.

Así mismo, la adición de mostaza + rábano + estiércol + restos del cultivo anterior (incluidas plantas enfermas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis cucumerinum*) mediante biosolarización, en el suelo del monocultivo de pepino que nunca había recibido enmiendas orgánicas, incrementó los niveles de MO, así como la cantidad de hongos contenidos en el suelo y el vigor de las plantas crecidas en el mismo.

En conclusión, los resultados mostraron que el síndrome de *fatiga del suelo* apareció en el suelo con bajo contenido en MO, que fue a la vez el que mostró menor densidad y diversidad de población fúngica. Para los suelos de monocultivo de tomate y de pepino contemplados en este estudio, la adición de materia orgánica fresca parece reconstituir su capacidad productiva, y con ello mitigar los efectos de la fatiga y el monocultivo.

Así mismo, otro estudio recientemente publicado (Marín-Guirao *et al.*, 2019), en el que se consideraron 40 suelos de invernadero de la provincia de Granada en los que se habían llevado a cabo monocultivos, bien de tomate o de pepino, durante al menos 10 años consecutivos, y en los que no había uniformidad en el manejo de la MOS, muestra que los principales parámetros de vigor de las plantas de tomate y pepino tuvieron una correlación positiva con la MOS, y con la diversidad de hongos.

En la misma línea de investigación, en el estudio de Martínez (2018) se muestrearon 19 invernaderos de una misma finca con la finalidad de adquirir una mayor comprensión y conocimiento, de cómo influye la MO en la comunidad fúngica del suelo perteneciente al género *Fusarium*, y de qué manera ambos factores impactaban en el desarrollo y el vigor de plantas hortícolas. El estudio concluye que el vigor de las plántulas de pepino crecidas sobre los suelos estudiados y mantenidas en cámara de

ambiente controlado, estuvo en función del contenido en MO. Sin embargo, en este caso, mientras los suelos mostraron una elevada correlación entre su contenido en MO y el contenido en los tres macronutrientes primarios de las plantas (*i.e.* Nitrógeno, Fósforo y Potasio), y aunque en todos los suelos muestreados hubo presencia de hongos del género *Fusarium*, la densidad y diversidad de hongos del género *Fusarium* no estuvo en función de la MO del suelo. En este estudio debe considerarse que, el manejo de suelo, y concretamente la gestión de la MO, en la finca en la que se incluían los suelos muestreados era uniforme en todos ellos, realizando incorporaciones de estiércol de manera reiterada en el tiempo, y por tanto no se apreciaron grandes diferencias en el contenido de MO de los suelos considerados. Como complemento, y de acuerdo con los análisis multivariantes aplicados el estudio, la comunidad fúngica del género *Fusarium* presente en los suelos con menor contenido en MO (*i.e.* %MO<2,0) mostró diferencias con las comunidades de los suelos con contenidos superiores en MO.

MATERIALES Y MÉTODOS

3. Materiales y métodos.

3.1. Localización y descripción de los invernaderos.

El trabajo fue realizado en dos invernaderos situados en el término municipal de Berja (Almería). Los dos invernaderos, denominados Invernadero 1 e Invernadero 2 en adelante, presentaban una estructura del tipo “raspa y amagado” (Valera *et al.*, 2017) que son los más comunes en la zona, y una superficie de 2,54 y 2,19 ha respectivamente. En estos invernaderos se desarrollan cultivos al amparo del Reglamento (CE) 834/2007 sobre Agricultura Ecológica y que, además, cumplen las normas de Producción Biodinámica que establece Demeter Internacional. Se trata de suelos desnudos en su totalidad, que reciben todos los años aportes de materia orgánica a partir de la adición de estiércol, que es incorporado al suelo mediante labor superficial con rotovator.

3.2. Diseño experimental.

Los tratamientos experimentales se correspondieron con diferentes dosis de restos vegetales que fueron incorporados en los tratamientos de biodesinfección (i.e. biosolarización). Además, se consideró un tratamiento en el que se incorporaron las enmiendas comúnmente adicionadas en la finca, y un tratamiento control en el que no se adicionó ninguna enmienda orgánica. Se ensayaron un total de 6 tratamientos:

T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas.

T1: Abonado orgánico de fondo comúnmente empleado en la explotación= 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma

T2: Biodesinfección con restos de cosecha a razón de 2,5 kg·m⁻²

T3: Biodesinfección con restos de cosecha a razón de 5,0 kg·m⁻²

T4: Biodesinfección con restos de cosecha a razón de 7,5 kg·m⁻²

T5: Biodesinfección con restos de cosecha a razón de 10 kg·m⁻²

Los tratamientos presentaron 4 repeticiones, a excepción del tratamiento control (T0) que contó con 5 repeticiones (Ver Figura 1). Éste diseño experimental se realizó con la intención de poder contrastar los resultados de los tratamientos de biodesinfección independientemente de su localización en el invernadero. La distribución de los tratamientos fue totalmente al azar.

Las parcelas experimentales tuvieron una superficie de 25 m², a excepción de las parcelas control (T0) que tuvieron una superficie de 50 m² para evitar el posible “efecto borde” de los tratamientos con restos orgánicos, ocupando así un total de 750 m² en

cada uno de los invernaderos experimentales. En el Invernadero 1, en el que se desarrolló un cultivo de pepino tras los tratamientos, cada unidad experimental presentó 1 línea de cultivo de 30 plantas. mientras que, en el invernadero 2 en el que se desarrolló un cultivo de pimiento tras los tratamientos, la parcela experimental presentó 2 líneas de cultivo pareadas con un total de 50 plantas.

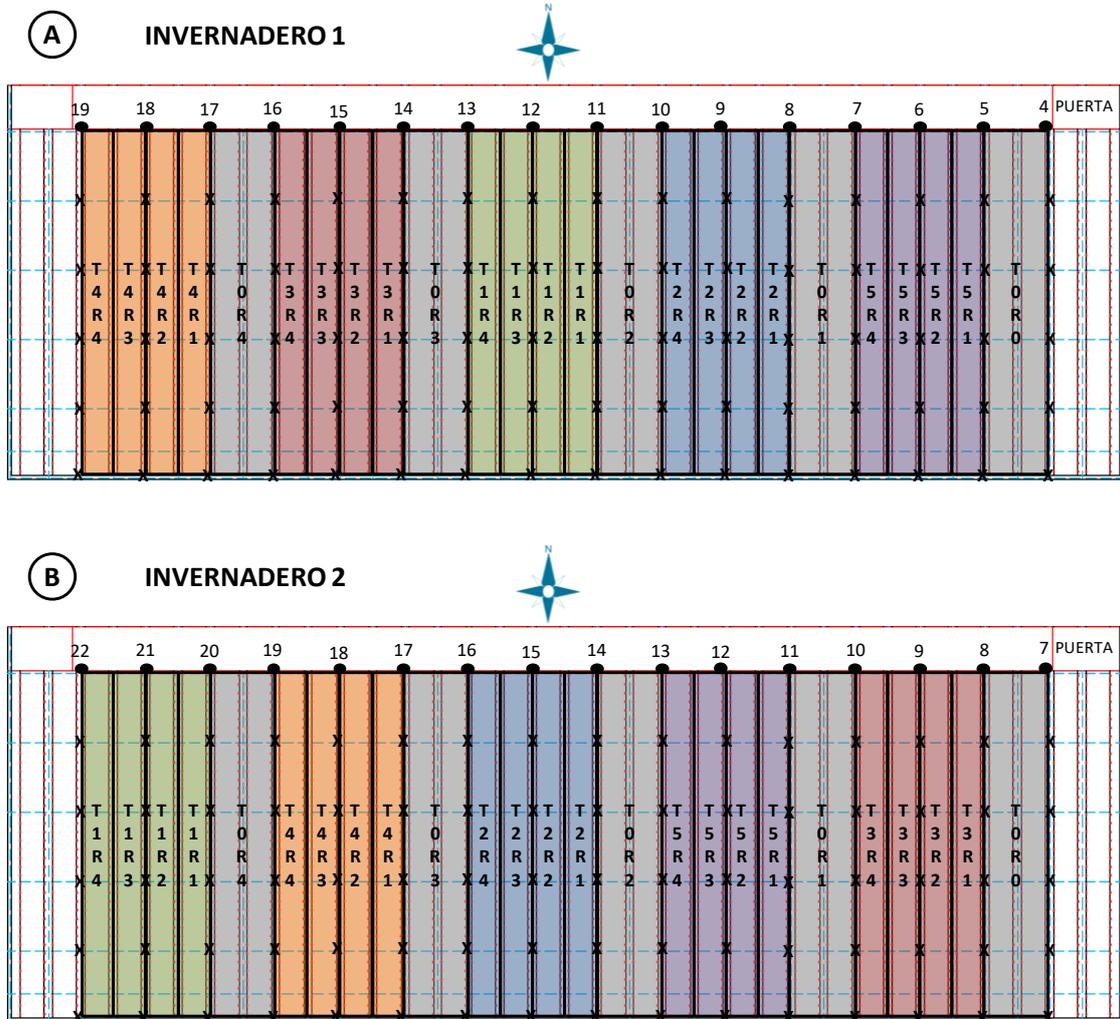


Figura 1. Distribución de los tratamientos en los invernaderos 1 (A) y 2 (B).

3.3. Realización de los tratamientos de biodesinfección.

Las distintas enmiendas orgánicas fueron aplicadas mediante tratamientos de biosolarización (Figura 2). Se realizó el triturado del material vegetal con una picadora de martillos (Figura 2A) y se repartió de forma homogénea en las parcelas experimentales por medio de rastrillos (Figura 2B y C). Del mismo modo, se aportó el abonado de fondo en la parcela correspondiente al tratamiento T1 que se repartió, igualmente haciendo uso de rastrillos, de forma homogénea. A continuación, se realizó

la incorporación al suelo del material mediante labor superficial con rotovator, dando un pase cruzado, primero en perpendicular a la situación de las líneas de cultivo, y finalmente en paralelo a las mismas. Seguidamente se colocaron las líneas portagoteros, que fueron revisados para su correcto funcionamiento y de esta manera asegurar un riego uniforme, y se procedió a la puesta de la cubierta plástica haciendo uso de un polietileno transparente de 100 galgas (Figura 2D). Por último, se dio un riego de 8 horas ($35,2 \text{ l/m}^2$) que dio comienzo a los tratamientos.

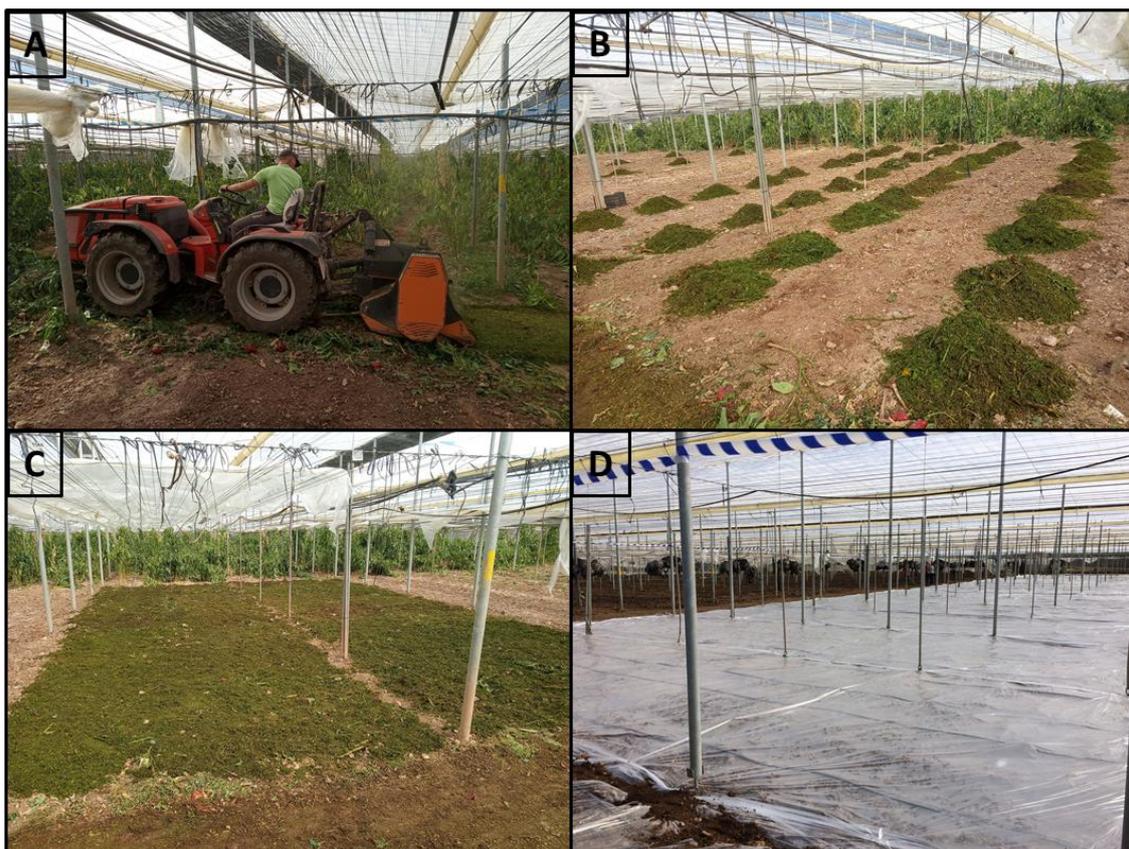


Figura 2. Proceso de incorporación de los restos vegetales mediante biosolarización. Triturado del material (A), distribución (B), homogenización (C) y puesta de cubierta plástica (D).

3.3.1. Fechas de los tratamientos.

*Invernadero 1. Inicio de la biodesinfección: 19 de Abril de 2017; Fin biodesinfección: 30 de Junio de 2017 (72 días de tratamientos de biosolarización).

*Invernadero 2. Inicio de biodesinfección: 4 de Abril de 2017; Fin biodesinfección: 5 de Mayo de 2017 (31 días de tratamientos de biosolarización).

3.4. Material vegetal.

Tras los tratamientos de biosolarización, los cultivos que se desarrollaron en los invernaderos fueron:

-Invernadero 1: Pepino (*Cucumis sativus*) cv. Pradera (Rijk Zwaan) “tipo Almería”/“holandés” con una densidad de plantación de 12000 plantas/ha. El trasplante se realizó el 20 de Julio de 2017, y el cultivo se mantuvo hasta el 1 de Diciembre de 2017.

-Invernadero 2: Pimiento (*Capsicum annuum*) cv. Celaya (Enza Zaden) “california amarillo” con una densidad de plantación de 20000 plantas/ha. El trasplante se realizó el 15 de Mayo de 2017, y el cultivo se mantuvo hasta el 13 de Marzo de 2018.

3.5. Muestreos de suelo.

Para las distintas evaluaciones microbiológicas se tomaron muestras de suelo en 3 momentos diferentes a lo largo de la experimentación.

- M1: Antes de las biodesinfecciones (22/02/17)
- M2: Después de las biodesinfecciones (Invernadero 1: 30/06/17; Invernadero 2: 05/05/17)
- M3: Tras finalizar el ciclo de cultivo de pepino (Invernadero 1: 01/12/17) y de pimiento (Invernadero2: 13/03/18).

En el muestreo M1 se tomó una única muestra de la zona o parcela donde se iban a realizar los ensayos. En los muestreos M2 y M3, las muestras fueron tomadas en todas las repeticiones del tratamiento Control (T0), mientras que del resto de tratamientos (T1, T2, T3, T4 y T5) se cogieron de tres repeticiones (R1, R2 y R3). Las muestras, de aproximadamente 5,0 kg, se tomaron a una profundidad de 0 a 30 cm, empleando para ello una pala (Figura 3A) que fue desinfectada entre muestra y muestra flameándola con alcohol. Los muestreos se realizaron en las líneas de cultivo situadas en el centro de la unidad experimental para evitar el posible “efecto borde” entre tratamientos. Cada muestra estuvo compuesta por 3 submuestras que se mezclaron para su correcta homogeneización.

3.6. Evaluación de la microbiota fúngica, bacteriana y oomicetos.

3.6.1. Preparación de las muestras para el análisis microbiológico.

Siguiendo las indicaciones de Tello *et al.* (1991) las muestras fueron sometidas a un proceso de secado, triturado y tamizado.

Para proceder al secado de las muestras, estas fueron depositadas en recipientes de plástico colocados en el laboratorio a temperatura ambiente (Figura 3B). Una vez secas se procedía a su triturado, llevado a cabo con un mortero de porcelana donde se

deshacía cualquier terrón y se eliminaba cualquier tipo de piedra de diámetros mayores. Finalmente se tamizaba usando un tamiz de 0,2 mm de luz (Figura 3C). Entre cada muestra cualquiera de los utensilios usados en dichos procesos eran desinfectados mediante flameado con alcohol.



Figura 3. Recogida de muestras de suelo(A), secado de las muestras en el laboratorio (B) y tamizado de las muestras (C).

3.6.2. Métodos analíticos

Microbiota total (hongos y bacterias). Método de las diluciones sucesivas (Tello et al. 1991).

De cada muestra de suelo ya tamizada, se añadieron 10 g a un matraz Erlenmeyer con 90 ml de agua estéril. Se agitó manualmente para homogeneizar la suspensión y se tomaron, con una pipeta 5 ml que fueron incorporados a un frasco con 45 ml de agua estéril conformando la dilución de rango 10^{-2} (Figura 4A). De esta nueva dilución, se cogieron 5 ml y se añadieron a otro frasco con 45 ml de agua estéril; de esta forma se obtiene la dilución 10^{-3} . Se prosiguió hasta el nivel de dilución deseado de manera que las muestras de suelo quedasen bien representadas para una correcta lectura e identificación de la microbiota (Figura 4B).

Una vez que las diluciones estuvieron ya preparadas, se analizaron 10 ml repartidos en 10 placas de Petri a razón de 1 ml/placa. La operación se desarrolla así: con una pipeta estéril de 1 ml se toma ese volumen y se añade a una placa de Petri estéril. A continuación, se añade a cada placa de Petri 10 ml de medio agar-malta acidificado fundido (10 g de Agar y 10g de Malta en 1000 ml de agua esterilizados en autoclave 30 minutos a 120°C , a lo que se le añaden al enfriarse hasta $42-43^{\circ}\text{C}$, 0.25 g de ácido

cítrico por 1.000 ml de agar-malta). Con unos suaves movimientos, se uniformiza el suelo en el volumen agregado de medio.

Por último, estas placas de Petri que contienen las muestras diluidas a analizar se incuban en el laboratorio a temperatura ambiente durante 4-7 días antes de proceder al conteo e identificación a escala de géneros (Ellis 1971; Barnett y Hunter 1972) de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de hongos (Figura 5), así como al conteo de bacterias totales presentes en cada repetición, crecidas en cada una de las placas.

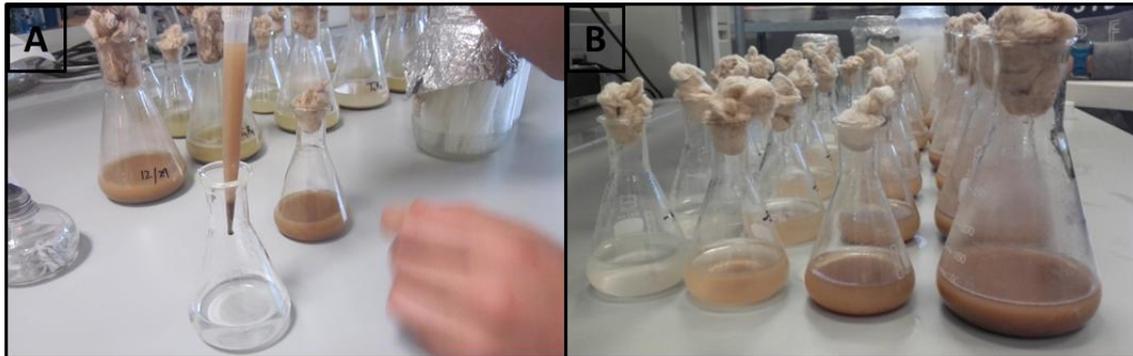


Figura 4. Proceso de realización de las diluciones sucesivas con muestras de suelo. Adición de muestra en agua estéril (A) e imagen de las diluciones finales (B).

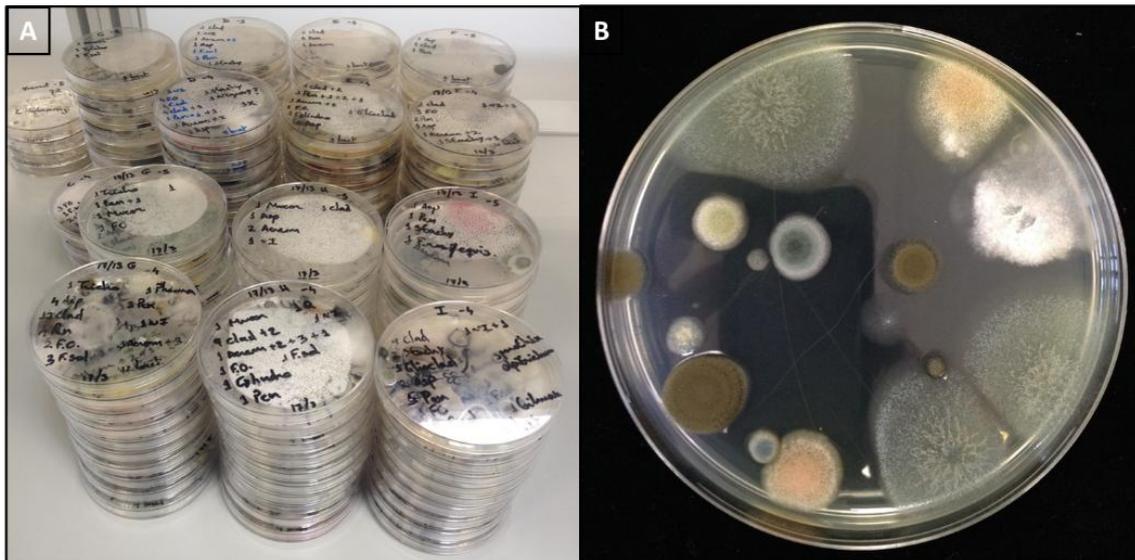


Figura 5. Placas de Petri empleadas en los análisis de microbiota total (hongos y bacterias) (A) y expresión analítica de la microbiota fúngica de una de las muestras de suelo analizadas(B).

Presencia de Oomicetos. Método de trampas vegetales.

Se usaron pétalos inmaduros de clavel. Se realizaron 5 repeticiones de cada muestra para cada uno de los muestreos realizados. Las repeticiones contenían 5 pétalos de clavel (Figura 6A). La incubación se realizó en el laboratorio a temperatura ambiente durante 4-5 días (Figura 6B). Transcurrido el tiempo indicado, se procedió a la

identificación morfológica de oomicetos pertenecientes a los géneros *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. de acuerdo con Van der Plaats- Niterink (1981) y Gallegly y Hong (2008), respectivamente, determinando presencia o ausencia de oomicetos en cada una de las repeticiones, para ello se consideró presencia cuando se encontraron oomicetos en al menos uno de los pétalos. Los resultados se expresan, para cada uno de los muestreos realizados, en % de repeticiones con presencia de oomicetos.

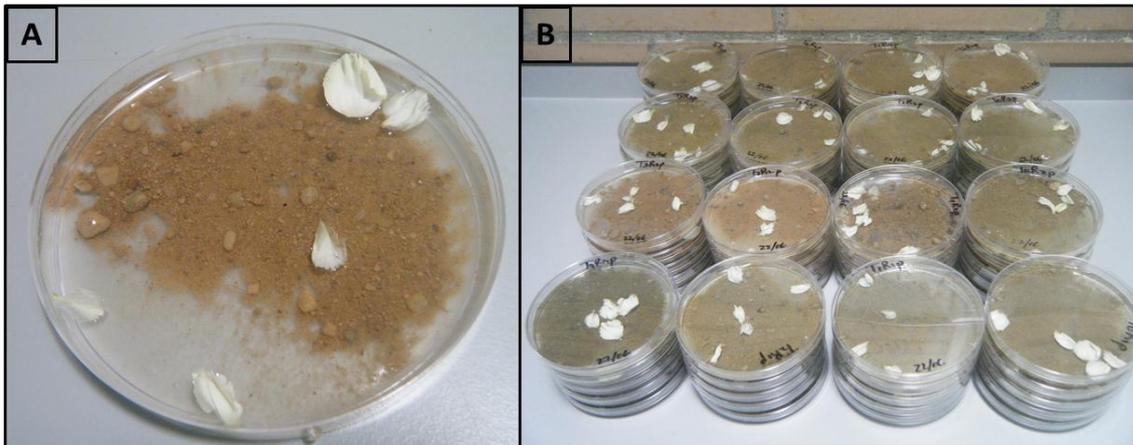


Figura 6. Detalle de placa de Petri con muestra de suelo y pétalos de clavel inmaduros (A) e incubación de muestras para su posterior lectura (B).

3.7. Análisis de datos

Los resultados de cada una de las fracciones microbianas evaluadas (hongos, bacterias y oomicetos), y para cada uno de los muestreos realizados (antes y después de los tratamientos, y al finalizar los cultivos), son mostrados en primer lugar como resultados individuales de cada unidad experimental.

Para comparar diferencias entre los tratamientos realizados, se realizaron análisis de la varianza (one-way ANOVA) para cada una de las variables evaluadas (densidad y diversidad de géneros de la comunidad fúngica, densidad de bacterias, y presencia de oomicetos) y para cada momento de muestreo (antes y después de los tratamientos, y al finalizar los cultivos). A continuación se empleó el test de las mínimas diferencias significativas de Fisher al 95% de confianza para la comparación de las medias. El paquete estadístico usado fue Statgraphic Centurion XVI.I (Manugistic Incorporate, Rockville, MD, USA) para Windows.

RESULTADOS

4.Resultados.

En este punto se presentan los resultados de las evaluaciones microbiológicas realizadas. Los resultados se muestran en dos apartados diferenciados según el momento en el que fueron tomadas las muestras. En el primer apartado se presentan los resultados concernientes a las evaluaciones realizadas con muestras de suelo tomadas antes de realizar los tratamientos, para así conocer la situación inicial en cada uno de los invernaderos. En el segundo apartado se presentan los resultados puntuales concernientes a las evaluaciones realizadas con muestras de suelo de los dos invernaderos, tomadas después de los tratamientos y al finalizar el cultivo, en cada caso, para así conocer los efectos de los tratamientos sobre las fracciones microbianas evaluadas. Así mismo, en este segundo apartado se presenta la variación de la microbiota edáfica evaluada (i.e. hongos, bacterias y oomicetos) a lo largo del ensayo. De esta manera, los resultados de las distintas fracciones microbianas evaluadas se muestran por separado para cada Invernadero.

4.1. Microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) en los Invernaderos 1 y 2 antes de la realización de los tratamientos de biodesinfección.

La Tabla 1 muestra los resultados del inóculo de microbiota total (hongos y bacterias) en las muestras de suelo de los dos invernaderos al inicio de los ensayos.

El muestreo inicial realizado en los dos invernaderos muestra diferencias de densidad total de hongos, mientras que los valores de densidad de bacterias se muestran cercanos. Esto suele ser normal cuando se analiza la microbiota del suelo, pero debe considerarse que en los dos invernaderos las poblaciones de hongos y bacterias estuvieron dentro de la misma orden de magnitud.

Si atendemos a los géneros de hongos encontrados (Tabla 1), el número total de géneros identificados es prácticamente similar en ambos invernaderos, siendo identificados catorce géneros en el Invernadero 1 y quince en el Invernadero 2. En total, se han identificado 19 géneros diferentes, incluidas otras Unidades Formadoras de Colonia (UFC), que por ausencia de estructuras sexuales necesarias para su identificación morfológica, han sido consideradas como géneros “no identificados”. Al respecto, encontramos 10 géneros fúngicos comunes en ambos suelos (i.e. *Acremonium* spp, *Aspergillus* spp, *Cladosporium* spp, *Fusarium* spp, *Geotrichum* spp, *Histoplasma* spp, *Penicillium* spp, *Stachybotrys* spp, *Trichoderma* spp. y “no identificado”), 4 géneros fúngicos presentes en el Invernadero 1 pero no en el Invernadero 2 (i.e.

Botryotrichum spp, *Botrytis* spp, *Drechslera* spp, *Mucor* spp.), y 5 géneros fúngicos presentes en el Invernadero 2 pero no en el Invernadero 1 (i.e. *Alternaria* spp, *Cylindrocarpom* spp, *Gliocladium* spp, *Humicola* spp, *Stemphylium* spp.).

En ambos suelos, los hongos identificados pertenecientes al género *Aspergillus* spp. son los que mayor densidad de población presentan (Tabla 1).

Tabla 1. Cuantificación del inóculo de microbiota total (hongos y bacterias) en las muestras de suelo de los dos invernaderos al inicio de los ensayos (UFC·g⁻¹suelo).

	Invernadero1	Invernadero 2
<i>BacteriasTotal</i>	11,25±2,36	10,40±5,18
<i>Hongos Total</i>	112,60±15,01	45,20±11,45
Géneros fúngicos	10⁴ UFC/g¹	
<i>Acromonium</i> spp.	3,40±0,89	5,20±5,40
<i>Alternaria</i> spp.		0,20±0,45
<i>Aspergillus</i> spp.	79,20±11,76	11,40±4,39
<i>Botryotrichum</i> spp.	0,80±1,10	
<i>Botrytis</i> spp.	0,20±0,45	
<i>Cladosporium</i> spp.	3,60±2,70	4,00±4,36
<i>Cylindrocarpom</i> spp.		0,20±0,45
<i>Drechslera</i> spp.	1,00±1,00	
<i>Fusarium</i> spp.	2,00±1,00	5,20±3,70
<i>Geotrichum</i> spp.	0,20±0,45	0,60±1,34
<i>Gilmaniella</i> spp.		
<i>Gliocladium</i> spp.		0,40±0,89
<i>Nigrospora</i> spp.		
<i>Histoplasma</i> spp.	1,00±1,41	4,20±1,10
<i>Humicola</i> spp.		1,00±1,22
<i>Mucor</i> spp.	2,20±2,17	
<i>Penicillium</i> spp.	3,40±1,67	3,80±2,59
<i>Phoma</i> spp.		
<i>Rhizopus</i> spp.		
<i>Stachybotrys</i> spp.	1,80±0,84	1,20±1,30
<i>Stemphylium</i> spp.		0,20±0,45
<i>Trichoderma</i> spp.	1,40±0,89	1,00±1,41
<i>Torula</i> spp.		
No Identificado	1,80±1,10	1,40±1,14
Total Géneros	14	15

La Tabla 2 muestra el porcentaje de presencia de oomicetos en las muestras de suelo de los dos invernaderos al inicio de los ensayos. Debe destacarse que en ambos casos hubo presencia de oomicetos pertenecientes al género *Pythium* sp. y que en ninguno de ellos se detectó la presencia de *Phytophthora* spp. En el Invernadero 1 hubo presencia de *Pythium* sp. en la totalidad de las muestras analizadas, mientras que en el Invernadero 2 la presencia fue de un 66,6% (Tabla 2).

Tabla 2. Presencia de oomicetos en las muestras de suelo de los dos invernaderos al inicio de los ensayos.

Muestra	% presencia	
	<i>Pythium sp.</i>	<i>Phytophthora</i>
Invernadero 1	100,0*	--
Invernadero 2	66,6*	--

4.2. Efecto de los tratamientos de biodesinfección sobre la microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos). Microbiota edáfica tras los tratamientos de biodesinfección, al finalizar los cultivos comerciales y variación a lo largo del ensayo.

Los resultados se muestran por separado para cada Invernadero.

4.2.1. Invernadero 1

Se muestran los resultados de las distintas fracciones microbiológicas evaluadas por separado, en función del momento en el que se tomaron las muestras de suelo, así como la variación a lo largo del ensayo.

Microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) tras los tratamientos de biodesinfección.

Después de los tratamientos realizados la microbiota total (hongos y bacterias) disminuye de forma generalizada en cantidad (descenso en una orden de magnitud; de 10^4 UFC/g a 10^3 UFC/g) y en diversidad. La disminución aparece más notoria en los tratamientos que no recibieron restos de cosecha para hacer la biodesinfección, que en algunos casos no se detectaron hongos a la dilución estudiada (10^{-3}), y en otros la presencia de hongos fue prácticamente nula (ver Figura 7 y Tabla 3). De forma generalizada, las poblaciones de hongos fue mayor en los suelos que recibieron el tratamiento con la mayor cantidad de restos vegetales (i.e. T5: 10 kg/m^2 restos vegetales), mientras que las poblaciones de bacterias, salvo excepciones puntuales, fue mayor en los suelos que recibieron los tratamientos con las dos mayores cantidades de restos vegetales (i.e. T4: $7,5 \text{ kg/m}^2$ restos vegetales y T5: 10 kg/m^2 restos vegetales) (Figura 7).

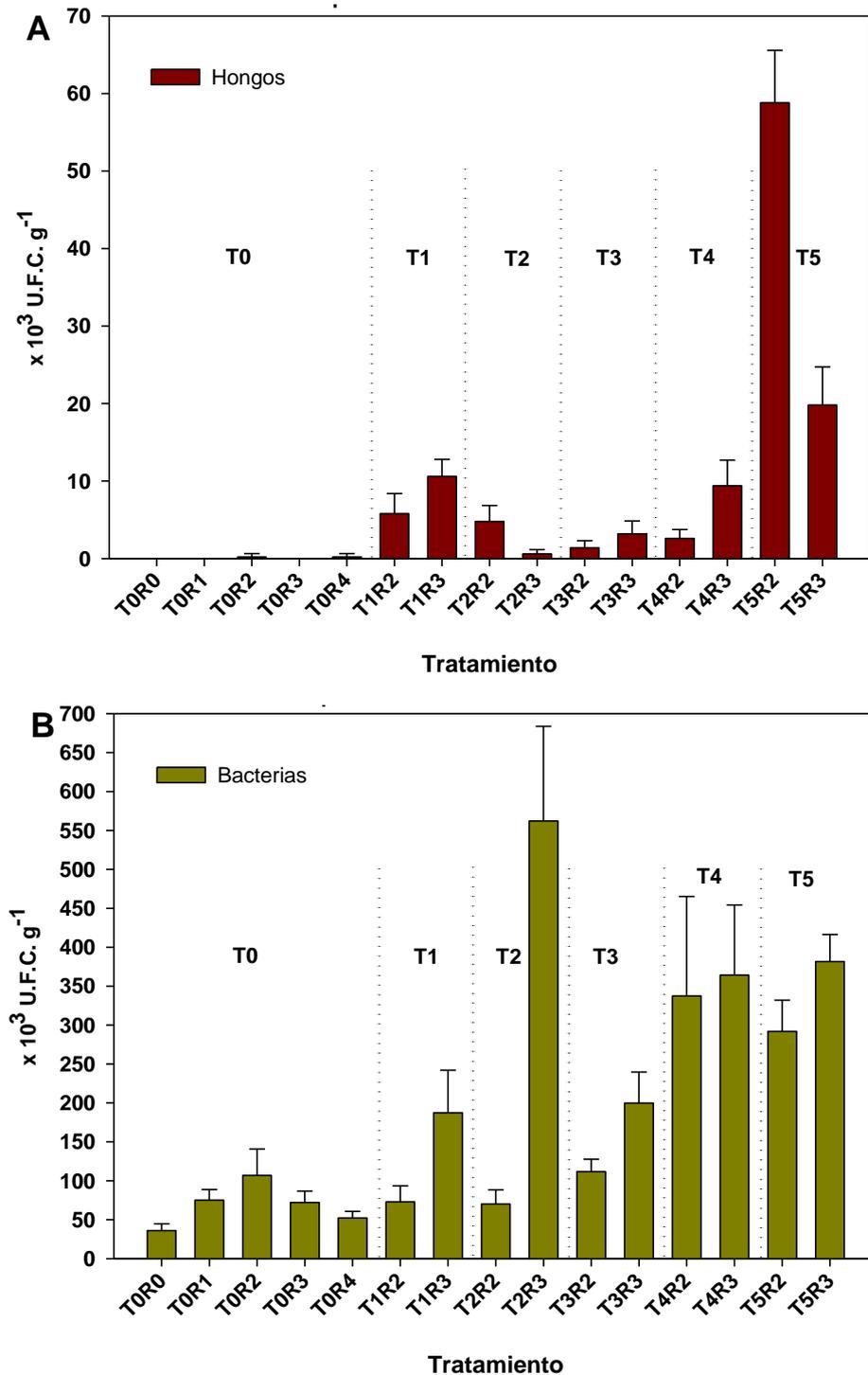


Figura 7. Expresión gráfica global de hongos (A) y bacterias (B) en las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 1. Los resultados (promedio \pm desviación estándar $\times 10^3$ U.F.C. g^{-1} suelo) corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5 kg m^{-2} estiércol + $0,1\text{ kg m}^{-2}$ harina de pluma; T2: $2,5\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ restos de cosecha; T3: $5\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ restos de cosecha; T4: $7,5\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ restos de cosecha; T5: $10\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ restos de cosecha.

El número de géneros de hongos se redujo a 5 en total (i.e. *Aspergillus* spp, *Humicola* spp, *Mucor* spp, *Penicillium* spp, “No identificado”), siendo *Aspergillus* sp. el género fúngico que estuvo presente en todos los suelos en los que hubo presencia de hongos. Además, la presencia de hongos del género *Humicola* sp. fue común en todos los tratamientos que recibieron enmiendas orgánicas (Tabla 3).

La Tabla 4 muestra los resultados de presencia de oomicetos en las muestras de suelo de las parcelas experimentales del Invernadero 1, cogidas inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. El descenso de oomicetos alcanzó el “cero analítico” en todos los casos.

Tabla 4. Presencia de oomicetos en muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 1. Los resultados corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

Muestra	% presencia	
	<i>Pythium</i> sp.	<i>Phytophthora</i> sp.
T0R0	--	--
T0R1	--	--
T0R2	--	--
T0R3	--	--
T0R4	--	--
T1R2	--	--
T1R3	--	--
T2R2	--	--
T2R3	--	--
T3R2	--	--
T3R3	--	--
T4R2	--	--
T4R3	--	--
T5R2	--	--
T5R3	--	--

-- = Ausencia de oomicetos

Tabla 3. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 1. Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10³ U.F.C. g⁻¹ corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

	T0R0	T0R1	T0R2	T0R3	T0R4	T1R2	T1R3	T2R2	T2R3
Genero/Especie					10³ UFC/g¹				
<i>Aspergillus</i> spp.			0,20±0,45		0,20±0,45	5,20±3,27	7,80±3,27	4,80±2,05	0,60±0,55
<i>Humicola</i> spp.							0,20±0,45	0,2±0,45	
<i>Mucor</i> spp.						0,60±0,89	2,60±1,52		
<i>Penicillium</i> spp.									
No Identificado									
Total Géneros	0	0	1	0	1	2	3	2	1

	T3R2	T3R3	T4R2	T4R3	T5R2	T5R3
Genero/Especie	10³ UFC/g¹					
<i>Aspergillus</i> spp.	1,20±1,10	3,20±1,64	0,60±0,55	0,80±0,84	58,60±6,73	19,40±5,03
<i>Humicola</i> spp.	0,20±0,45		2,00±0,71	1,20±1,64	0,20±0,45	0,40±0,55
<i>Mucor</i> spp.						
<i>Penicillium</i> spp.				0,20±0,45		
No Identificado				7,20±2,17		
Total Géneros	2	1	2	4	2	2

Microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) al finalizar el ciclo de cultivo de pepino.

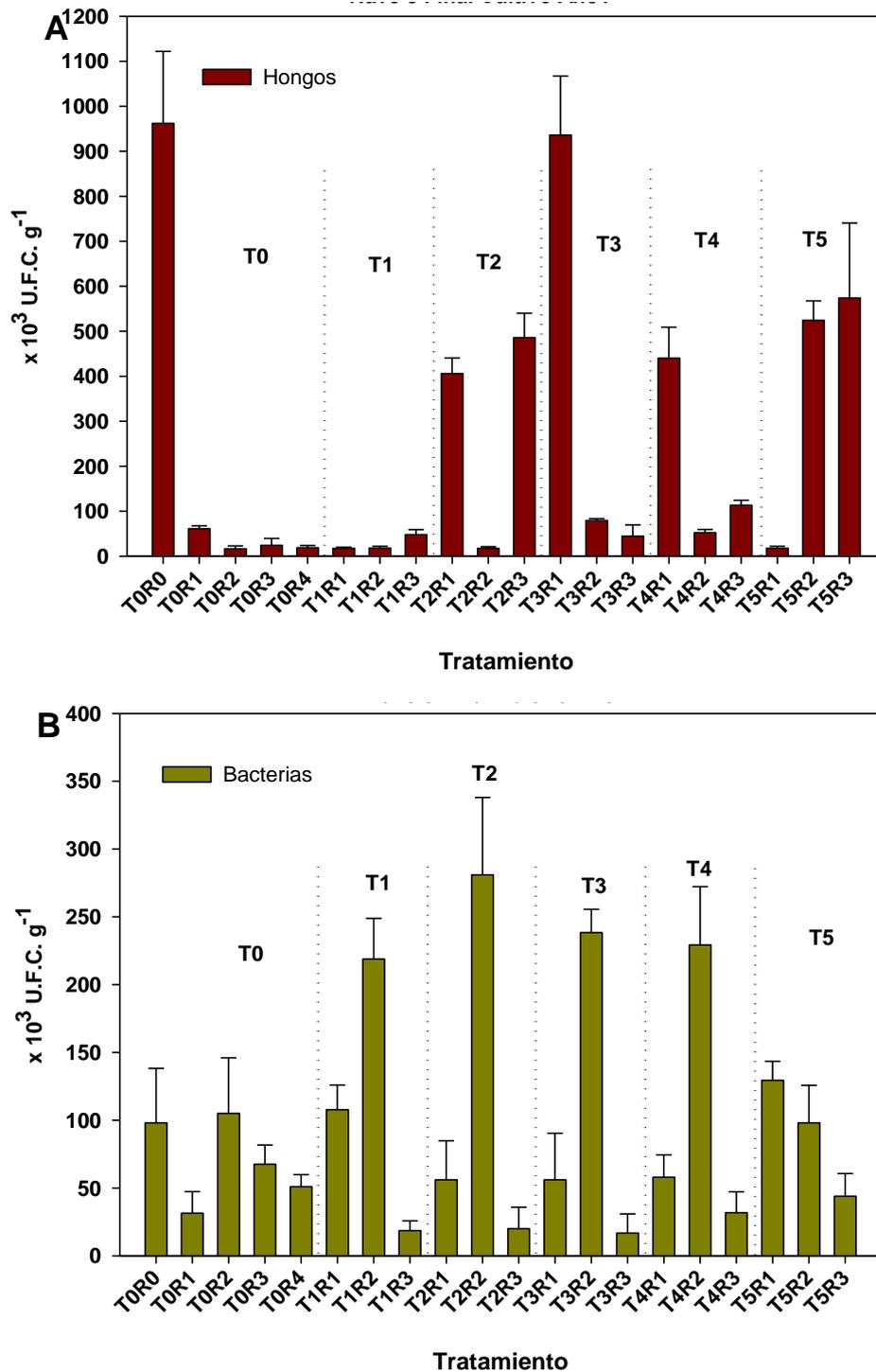


Figura 8. Expresión gráfica global de hongos (A) y bacterias (B) en las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 1. Los resultados (promedio \pm desviación estándar $\times 10^3$ U.F.C. g^{-1} suelo) corresponden al muestreo realizado al finalizar el ciclo de cultivo de pepino. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m^{-2} estiércol + 0,1 kg m^{-2} harina de pluma; T2: 2,5 kg m^{-2} restos de cosecha; T3: 5 kg m^{-2} restos de cosecha; T4: 7,5 kg m^{-2} restos de cosecha; T5: 10 kg m^{-2} restos de cosecha.

Al finalizar el cultivo de pepino, transcurridos 5 meses desde la realización de los tratamientos de biodesinfección, la microbiota fúngica y bacteriana general aumenta en cantidad (alcanzando niveles del orden de 10^4 UFC/g en todas las parcelas experimentales) y en diversidad (llegándose a identificar un total de 19 géneros de hongos, frente a los 14 géneros identificados antes de la realización de los tratamientos con respecto a los resultados obtenidos en las evaluaciones realizadas inmediatamente a continuación de los tratamientos (ver Figura 8 y Tabla 5).

Como se muestra en la Figura 9, no se han detectado diferencias en el número de géneros, ni entre los tratamientos considerados en el estudio que incorporan la práctica de la solarización con o sin previa aplicación de enmiendas orgánicas, ni tampoco al comparar éstos con muestras tomadas en parcelas que sí recibieron estiércol y harina de plumas pero que no fueron solarizadas (ver Tabla 6).

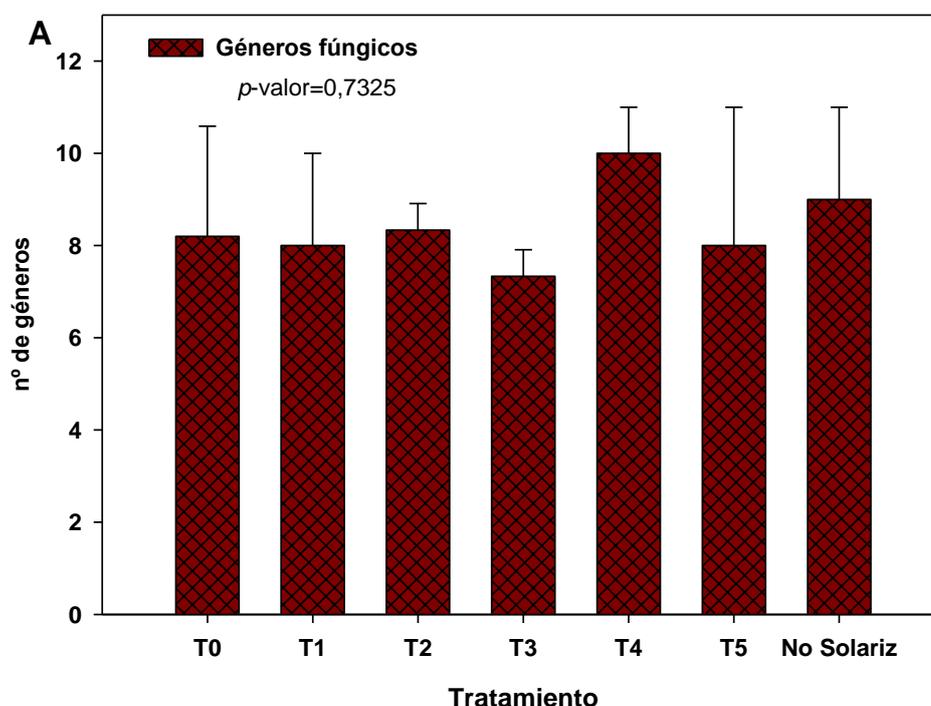


Figura 9. Expresión gráfica del número de géneros fúngicos (A). Los resultados (promedio±desviación estándar) corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pepino en el Invernadero 1. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5 kg m^{-2} estiércol + $0,1\text{ kg m}^{-2}$ harina de pluma; T2: $2,5\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ restos de cosecha; T3: $5\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ restos de cosecha; T4: $7,5\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ restos de cosecha; T5: $10\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ restos de cosecha; No solariz: T1 sin solarización.

Tabla 5. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 1. Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10³ U.F.C. g⁻¹ corresponden al muestreo realizado al finalizar el ciclo de cultivo de pepino. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

Género fúngico	T0R0*	T0R1	T0R2	T0R3	T0R4	T1R1	T1R2	T1R3	T2R1*	T2R2
	10 ³ UFC/g ¹									
<i>Acremonium</i> spp.	1,00±1,22	5,60±2,88	0,20±0,45	0,40±0,55	0,80±0,84	0,20±0,45		0,20±0,45	0,40±0,55	0,40±0,55
<i>Aspergillus</i> spp.	2,20±1,92	0,80±1,10	0,40±0,89	3,20±3,11	4,80±2,59	5,80±4,09	2,00±1,41	24,20±3,83	0,20±0,45	0,80±0,84
<i>Alternaria</i> spp.	0,80±0,84						0,20±0,45	0,20±0,45	0,20±0,45	
<i>Botryotrichum</i> spp.					0,60±0,55		5,60±2,41	0,60±0,55		1,80±0,84
<i>Chaetomium</i> spp.				0,20±0,45						
<i>Cladosporium</i> spp.	85,80±13,63	44,20±4,92	15,60±6,02	14,80±10,76	6,60±4,39	5,40±2,51	2,80±1,30	14,40±9,69	36,40±2,88	10,00±2,65
<i>Drechslera</i> spp.										
<i>Fusarium</i> spp.		0,20±0,45		1,60±3,58						0,60±0,89
<i>Geotrichum</i> spp.										
<i>Gilmaniella</i> spp.		3,40±2,70		1,00±1,22	0,80±1,10			4,20±1,48		
<i>Humicola</i> spp.				0,20±0,45			1,20±1,30			
<i>Mucor</i> spp.	0,20±0,45									
<i>Nigrospora</i> spp.									0,80±1,30	
<i>Penicillium</i> spp.	0,20±0,45			0,40±0,55	1,60±0,89	0,20±0,45		1,00±1,22		
<i>Phoma</i> spp.									0,40±0,55	0,20±0,45
<i>Stachybotrys</i> spp.	0,20±0,45	0,60±0,89	0,20±0,45		0,80±0,84	2,40±2,30	0,80±1,30	0,40±0,55	0,60±0,89	1,80±1,48
<i>Stemphylium</i> spp.		0,20±0,45			0,20±0,45			0,20±0,45		
<i>Trichoderma</i> spp.	0,20±0,45	0,20±0,45			0,20±0,45		0,20±0,45			0,20±0,45
No Identificado	5,60±2,07	5,80±1,92		0,80±1,30	2,40±2,30	3,40±2,30	5,20±1,10	2,40±2,07	1,60±1,14	1,00±1,00
Total Géneros	9	9	4	9	10	6	8	10	8	9

* x 10⁴ U.F.C. g⁻¹

Tabla 5. (Continuación)

	T2R3*	T3R1*	T3R2	T3R3	T4R1*	T4R2	T4R3	T5R1	T5R2*	T5R3*
Género fúngico	10³ UFC/g¹									
<i>Acromonium</i> spp.	1,40±1,14	1,00±1,22	1,20±0,84	2,40±1,14	2,00±1,00	0,80±0,84	14,60±6,58	0,40±0,55	0,60±0,55	1,00±0,71
<i>Aspergillus</i> spp.	0,40±0,55	0,80±0,45	1,80±0,45	1,40±0,89	26,80±4,21	7,20±3,35	28,60±7,96	1,00±0,71	40,40±5,68	0,80±0,84
<i>Alternaria</i> spp.				0,40±0,89		0,20±0,45	0,20±0,45		0,20±0,45	
<i>Botryotrichum</i> spp.	0,40±0,55	0,60±0,55		0,60±0,55	1,20±1,10	0,20±0,45	2,80±1,92	1,60±1,82	0,20±0,45	0,20±0,45
<i>Chaetomium</i> spp.										
<i>Cladosporium</i> spp.	45,40±4,39	90,40±13,59	62,20±3,56	36,20±21,03	9,60±3,29	38,00±6,52	59,00±17,48	7,80±1,79	6,40±2,30	54,80±16,60
<i>Drechslera</i> spp.						0,20±0,45				
<i>Fusarium</i> spp.	0,20±0,45		0,80±0,84		0,20±0,45					
<i>Geotrichum</i> spp.					0,20±0,45					
<i>Gilmaniella</i> spp.					0,60±1,34		4,40±1,67	2,60±0,89		
<i>Humicola</i> spp.	0,20±0,45				0,20±0,45					
<i>Mucor</i> spp.			0,40±0,55			0,80±1,30	0,80±0,84		0,60±0,89	
<i>Nigrospora</i> spp.										
<i>Penicillium</i> spp.		0,20±0,45	0,20±0,45	2,00±2,00	1,40±0,89				0,40±0,55	
<i>Phoma</i> spp.	0,20±0,45									
<i>Stachybotrys</i> spp.		0,40±0,55	0,20±0,45		1,40±0,89	1,80±1,30	2,00±1,58	1,20±1,10	0,60±0,89	
<i>Stemphylium</i> spp.							0,20±0,45		0,20±0,45	
<i>Trichoderma</i> spp.								0,40±0,89	0,20±0,45	
No Identificado	0,20±0,45	0,20±0,45	11,80±4,66	1,60±1,14	0,40±0,55	3,00±2,12	0,60±0,89	2,80±1,48	2,60±2,07	0,60±0,89
Total Géneros	8	7	8	7	11	9	10	8	11	5

* x 10⁴ U.F.C. g⁻¹

Tabla 6. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas del Invernadero 1 que recibieron las mismas enmiendas orgánicas que el tratamiento T1 (i.e. 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma) pero no fueron solarizadas . Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10⁴ U.F.C. g⁻¹ corresponden al muestreo realizado al finalizar el ciclo de cultivo de pepino.

Género fúngico	SIN SOLARIZAR		
	T1 R1	T1 R2	T1 R3
	x 10 ⁴ U.F.C. g ⁻¹		
<i>Acremonium</i> spp.	1,20±1,64	1,60±1,82	0,20±0,45
<i>Aspergillus</i> spp.	3,20±0,84	14,00±2,00	11,40±4,45
<i>Alternaria</i> spp.	0,40±0,55	0,20±0,45	
<i>Botryotrichum</i> spp.		1,60±0,55	0,20±0,45
<i>Chaetomium</i> spp.	0,20±0,45	0,20±0,45	
<i>Cladosporium</i> spp.	1,60±1,52	6,80±2,17	0,80±0,45
<i>Drechslera</i> spp.			
<i>Fusarium</i> spp.		0,20±0,45	
<i>Geotrichum</i> spp.			
<i>Gilmaniella</i> spp.			
<i>Humicola</i> spp.	0,40±0,89	0,80±0,45	0,20±0,45
<i>Mucor</i> spp.		0,20±0,45	
<i>Nigrospora</i> spp.			
<i>Penicillium</i> spp.	0,60±0,55	0,20±0,45	
<i>Phoma</i> spp.			
<i>Stachybotrys</i> spp.	0,40±0,55		1,00±1,22
<i>Stemphylium</i> spp.			
<i>Trichoderma</i> spp.			
No Identificado	2,60±0,89	1,80±0,84	2,80±1,48
Total Géneros	9	11	7

La presencia de oomicetos en las muestras de suelo de las parcelas experimentales al finalizar el cultivo de pepino, se muestra en la Tabla 7. Salvo la excepción puntual, que se corresponde con la presencia de oomicetos del género *Pythium* sp. en una de las muestras correspondientes al tratamiento con estiércol y harina de pluma, el descenso de oomicetos observado tras los tratamientos de biodesinfección, cuando se alcanzó el “cero analítico”, parece continuar al finalizar el cultivo.

Tabla 7. Presencia de oomicetos en muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 1. Los resultados corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pepino. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

Muestra	% presencia	
	<i>Pythium sp.</i>	<i>Phytophthora sp.</i>
T0R0	--	--
T0R1	--	--
T0R2	--	--
T0R3	--	--
T0R4	--	--
T1R1	--	--
T1R2	66,6*	--
T1R3	--	--
T2R1	--	--
T2R2	--	--
T2R3	--	--
T3R1	--	--
T3R2	--	--
T3R3	--	--
T4R1	--	--
T4R2	--	--
T4R3	--	--
T5R1	--	--
T5R2	--	--
T5R3	--	--

*Presencia de *Pythium aphanidermatum*; --= Ausencia de oomicetos

Variación de la microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) a lo largo del ensayo en el suelo del Invernadero 1.

Los tratamientos de biodesinfección realizados en el Invernadero 1, provocaron un descenso generalizado, esto es en todos los tratamientos, de las distintas fracciones microbiológicas evaluadas, a excepción de la densidad de población de bacterias (Figura 10). Así mismo, salvo para el caso de los oomicetos, al finalizar el cultivo de pepino, tras algo más de 4 meses desde la finalización de los tratamientos (i.e. 128 días), se aprecia una tendencia generalizada de las distintas fracciones microbianas a reconstituirse.

En el caso de los hongos, el descenso tras los tratamientos realizados se produjo tanto en la cantidad (Figura 10A), como en la diversidad (Figura 10B), siendo este descenso menor en

los tratamientos que recibieron enmiendas orgánicas. Así, la diversidad de hongos tras los tratamientos, considerada como el número de géneros diferentes identificados, fue mayor de forma significativa en los tratamientos que recibieron las mayores dosis de restos vegetales (i.e. T4 y T5), así como en los que incorporaron estiércol y harina de plumas (i.e. T1), en contraste con el tratamiento control que también fue solarizado pero no recibió ninguna enmienda orgánica. Al finalizar el cultivo se aprecia un incremento generalizado tanto en la cantidad como en la diversidad, aunque en ningún caso se alcanzaron los valores de inicio.

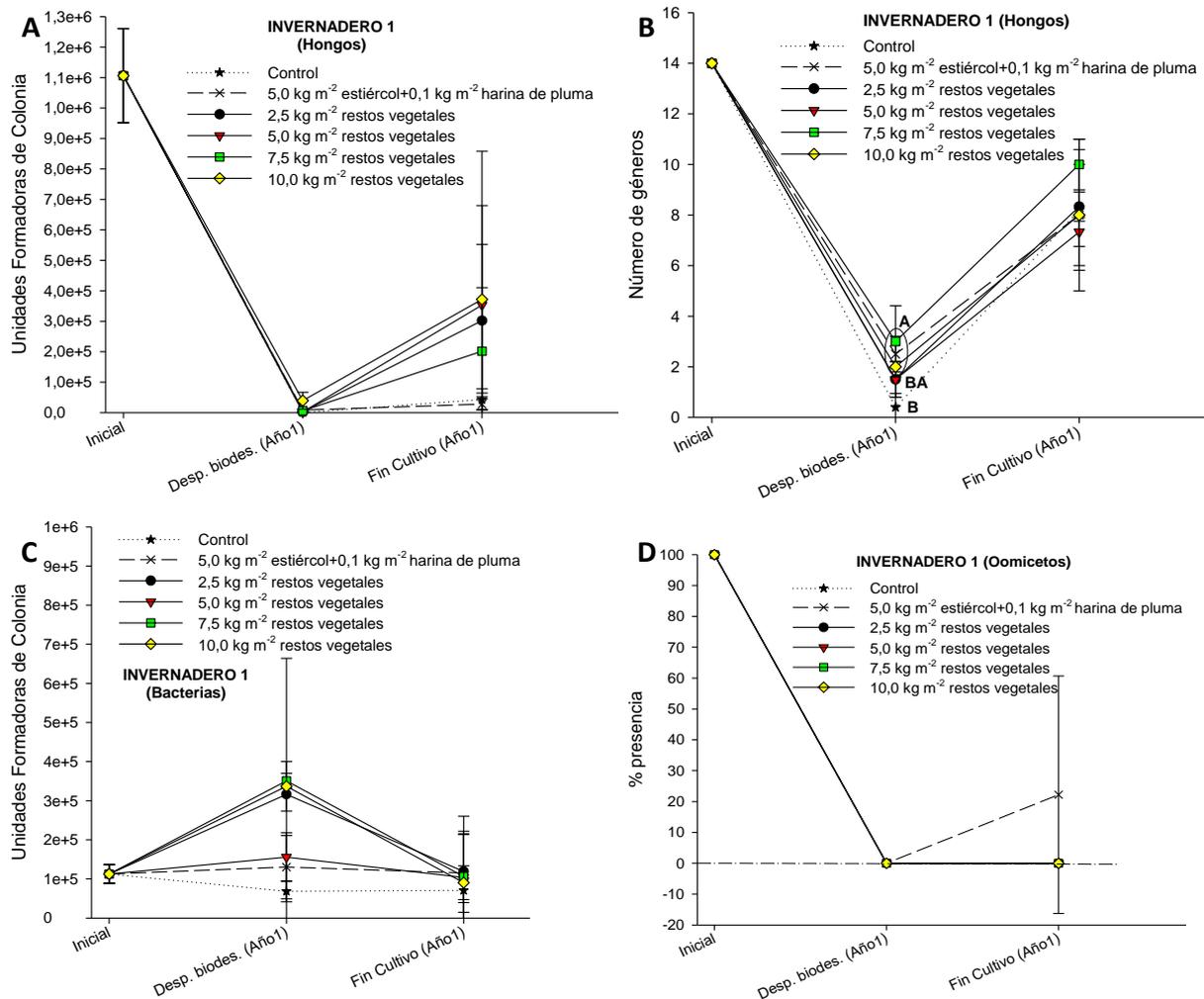


Figura 10. Variación de la microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) en función de las distintas enmiendas orgánicas adicionadas mediante biosolarización en el Invernadero 1. Variación de la densidad total de hongos (A), variación de la diversidad de hongos (B), variación de la densidad total de bacterias (C), y variación de la presencia de oomicetos (D). Valores (media \pm desviación estándar) expresados antes y después de los tratamientos, y al finalizar el ciclo de cultivo de pepino. Diferentes letras denotan diferencias estadísticas ($p < 0,05$) mediante el test de las mínimas diferencias significativas de Fisher (LSD).

La población de bacterias descendió tan solo en el tratamiento control que no recibió ninguna enmienda orgánica (Figura 10C). En este caso, además, tras los tratamientos la

adición de restos de cosecha incrementó notablemente la densidad de población bacteriana, siendo este incremento mayor en los tratamientos con las mayores dosis de restos vegetales, aunque en ningún caso se mostraron diferencias estadísticas, debido principalmente a las elevadas dispersiones en las medidas, que son fruto de la heterogeneidad que los suelos muestran de forma natural. De forma generalizada para todos los tratamientos, al finalizar el cultivo de pepino las poblaciones de bacterias alcanzan valores muy cercanos a los iniciales.

Todos los tratamientos realizados provocaron un descenso de oomicetos hasta alcanzar el “cero analítico”, que continuó de forma generalizada hasta finalizar el cultivo de pepino, salvo excepción puntual en la que se detectó presencia de *Pythium* sp. en una de las parcelas experimentales correspondientes al tratamiento con estiércol y harina de pluma (i.e. T1) (Figura 10D).

4.2.2. Invernadero 2.

Al igual que para el invernadero 1, se muestran los resultados de las distintas fracciones microbiológicas evaluadas por separado, en función del momento en el que se tomaron las muestras de suelo, así como la variación a lo largo del ensayo.

Microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) tras los tratamientos de biodesinfección.

Tras los tratamientos de biodesinfección realizados, el descenso de la microbiota fúngica y bacteriana no se muestra tan acusado como en el Invernadero 1, manteniéndose en este caso en densidades del orden de 10^4 UFC/g y con una alta diversidad de géneros fúngicos (ver Figura 11 y Tabla 8).

El número de géneros de hongos es de un total de 19 (i.e. *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp., *Botryotrichum* spp., *Candida* spp., *Cladosporium* spp., *Cylindrocarpom* spp., *Fusarium* spp., *Geotrichum* spp., *Gliocladium* spp., *Histoplasma* spp., *Humicola* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Stachybotrys* spp., *Stemphylium* spp., *Trichoderma* spp., “no identificado”) siendo *Aspergillus* spp., *Candida* spp. y *Fusarium* spp. los géneros fúngicos presentes en todos los suelos en los que hubo presencia de hongos. Además, la densidad del género *Aspergillus* spp. es bastante elevada en todos los suelos con respecto al resto de géneros identificados (Tabla 8).

De forma generalizada, las poblaciones de hongos fue mayor en los suelos que recibieron el tratamiento con la mayor cantidad de restos vegetales (i.e. T5: 10 kg/m² restos vegetales), mientras que las poblaciones de bacterias, fue siempre mayor en los suelos que recibieron los tratamientos con restos vegetales, principalmente en aquellos tratamientos que recibieron

cantidades superiores a 2,5 kg/m² (i.e. T3: 5,0 kg/m², T4: 7,5 kg/m² restos vegetales y T5: 10 kg/m² restos vegetales) (Figura 11).

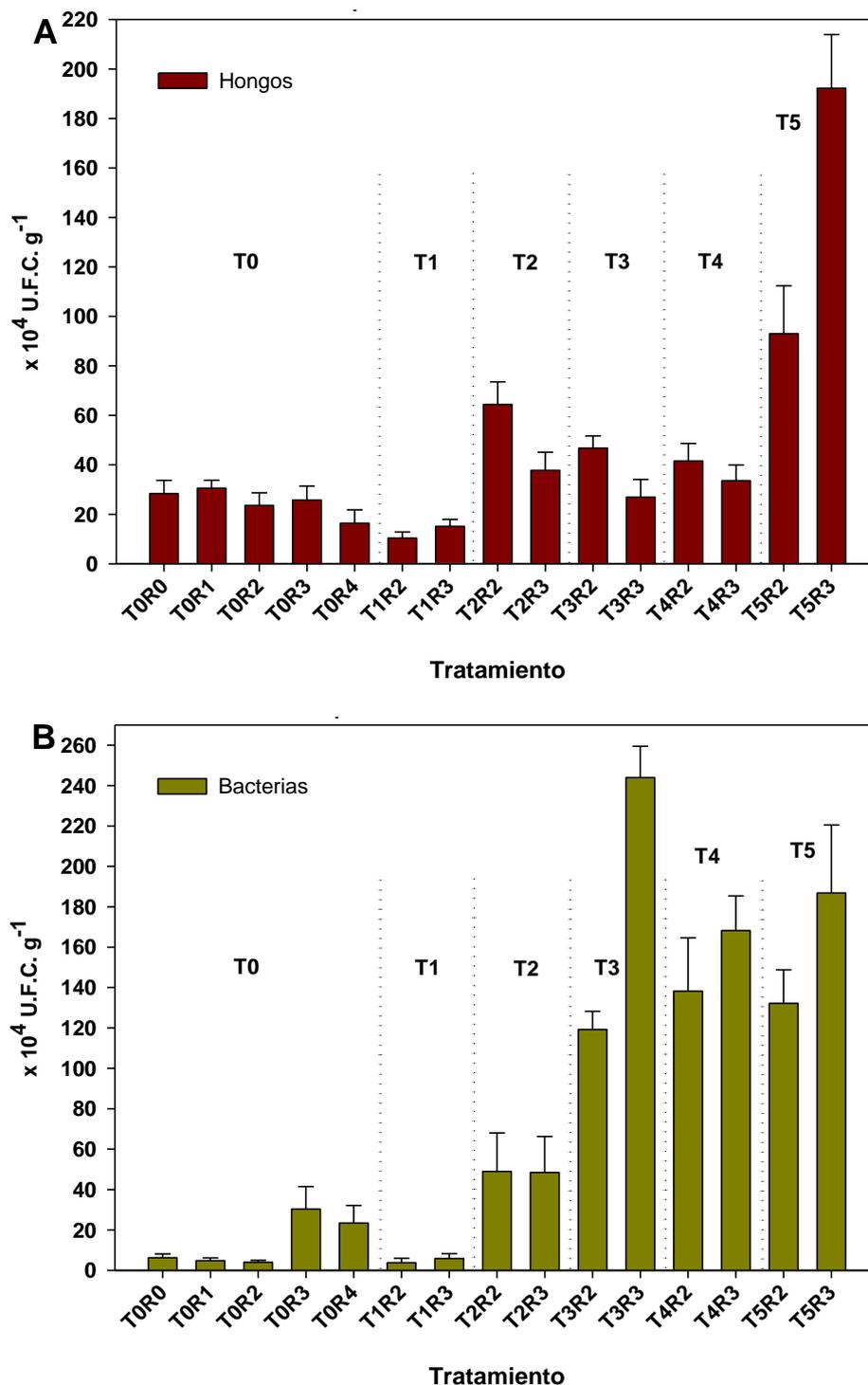


Figura 11. Expresión gráfica global de hongos (A) y bacterias (B) en las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados (promedio±desviación estándar x 10⁴ U.F.C. g⁻¹ suelo) corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

Tabla 8. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10³ U.F.C. g⁻¹ corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

Genero/Especie	T0R0	T0R1	T0R2	T0R3	T0R4	T1R2	T1R3	T2R2	T2R3
	10⁴ UFC/g¹								
<i>Acremonium</i> spp.	0,40±0,89	0,20±0,45	2,80±2,39	1,00±0,71	0,60±0,55		0,60±0,89		
<i>Aspergillus</i> spp.	15,60±7,30	24,00±3,74	3,60±3,36	6,80±4,21	6,40±3,78	2,40±0,89	0,80±0,84	48,80±12,87	23,60±5,86
<i>Botryotrichum</i> spp.				0,20±0,45					
<i>Candida</i> spp.	1,00±1,73	1,40±1,14	1,00±1,00	3,40±2,19	2,00±1,41	0,80±0,84	3,20±1,10	2,60±1,52	5,80±1,79
<i>Cladosporium</i> spp.						0,20±0,45			
<i>Cylindrocarpom</i> spp.				0,60±0,55		0,20±0,45		0,20±0,45	0,20±0,45
<i>Fusarium</i> spp.	2,40±2,07	1,20±0,84	2,20±0,84	3,20±1,64	1,20±0,45	0,80±0,84	1,00±1,41	3,60±1,34	1,20±0,84
<i>Geotrichum</i> spp.	0,20±0,45				0,20±0,45				0,20±0,45
<i>Gliocladium</i> spp.									
<i>Histoplasma</i> spp.									
<i>Humicola</i> spp.	2,00±1,22		2,60±2,70	0,80±1,10	0,60±0,55	0,20±0,45	0,20±0,45	0,80±1,79	0,40±0,55
<i>Mucor</i> spp.		0,60±0,55	1,80±1,48	3,00±3,67	0,40±0,55	0,40±0,55	1,20±1,79	0,80±1,30	0,20±0,45
<i>Penicillium</i> spp.	2,00±1,22	1,00±1,00	1,80±2,49	0,40±0,55	1,60±0,55	1,40±0,55		0,20±0,45	0,80±0,84
<i>Rhizopus</i> spp.									
<i>Stachybotrys</i> spp.	0,80±0,45	0,40±0,55	2,20±1,30	1,20±0,84	1,40±1,14	0,60±0,89	0,40±0,55		0,80±0,84
<i>Stemphylium</i> spp.		0,20±0,45	0,40±0,55	0,20±0,45				0,20±0,45	
<i>Trichoderma</i> spp.						0,40±0,55		0,40±0,55	0,20±0,45
No Identificado	1,60±1,52	0,40±1,52	3,00±1,58	1,80±1,64	0,80±0,84	2,20±0,84	6,80±2,05	3,20±1,30	3,20±2,28
Total Géneros	9	9	10	12	10	11	8	10	11

Tabla 8. (Continuación)

Genero/Especie	T3R2	T3R3	T4R2	T4R3	T5R2	T5R3
	10 ⁴ UFC/g ¹					
<i>Acremonium</i> spp.	0,40±0,89	0,80±0,84				
<i>Aspergillus</i> spp.	2,20±1,30	2,20±1,30	33,80±6,61	9,80±3,63	73,20±12,03	176,20±21,46
<i>Botryotrichum</i> spp.		0,20±0,45				
<i>Candida</i> spp.	2,00±1,22	3,20±1,92	1,80±0,84	2,20±1,92	3,40±2,07	3,40±0,89
<i>Cladosporium</i> spp.						
<i>Cylindrocarpom</i> spp.	0,20±0,45			0,20±0,45		
<i>Fusarium</i> spp.	16,40±2,97	7,80±2,49	1,20±0,45	7,20±3,63	4,20±2,77	4,20±2,39
<i>Geotrichum</i> spp.						
<i>Gliocladium</i> spp.			0,20±0,45			
<i>Histoplasma</i> spp.					0,20±0,45	
<i>Humicola</i> spp.	2,60±1,14	1,20±0,84	0,40±0,55	2,40±1,14	0,20±0,45	
<i>Mucor</i> spp.	1,00±1,22	0,20±0,45	0,80±0,84	2,80±0,45	3,20±2,28	1,20±0,84
<i>Penicillium</i> spp.		0,40±0,89			0,80±1,10	
<i>Rhizopus</i> spp.					0,20±0,45	
<i>Stachybotrys</i> spp.	1,00±0,71	1,60±0,89	0,40±0,89			
<i>Stemphylium</i> spp.	0,40±0,55		0,20±0,45		0,40±0,55	
<i>Trichoderma</i> spp.	0,20±0,45			0,40±0,55		
No Identificado	4,00±4,00	1,60±1,52	1,60±1,14	1,40±1,67	3,00±1,73	3,00±1,87
Total Géneros	11	10	9	8	10	5

La presencia de oomicetos pertenecientes al género *Pythium* se mantuvo en valores similares a los anteriores a la aplicación de la biodesinfección (Tabla 9).

Tabla 9. Presencia de oomicetos en muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del invernadero 2. Los resultados corresponden al muestreo realizado inmediatamente a continuación de los tratamientos de biodesinfección. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5 kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

Muestra	% presencia	
	<i>Pythium</i> sp.	<i>Phytophthora</i> sp.
T0R0	100,0*	--
T0R1	100,0*	--
T0R2	100,0*	--
T0R3	100,0*	--
T0R4	100,0*	--
T1R2	100,0*	--
T1R3	33,3	--
T2R2	100*	--
T2R3	66,6*	--
T3R2	100	--
T3R3	33,3	--
T4R2	100	--
T4R3	100	--
T5R2	66,6	--
T5R3	100	--

*Presencia de *Pythium aphanidermatum*; --= Ausencia

Microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) al finalizar el ciclo de cultivo de pimiento.

Al finalizar el cultivo de pimiento, transcurridos 10 meses desde la realización de los tratamientos de biodesinfección, la microbiota fúngica y bacteriana general se mantiene en densidades del orden de 10⁴ UFC/g llegándose a identificar hasta un total de 26 géneros de hongos, frente a los 15 géneros identificados antes de la realización de los tratamientos (ver Figura 12, Tabla 10).

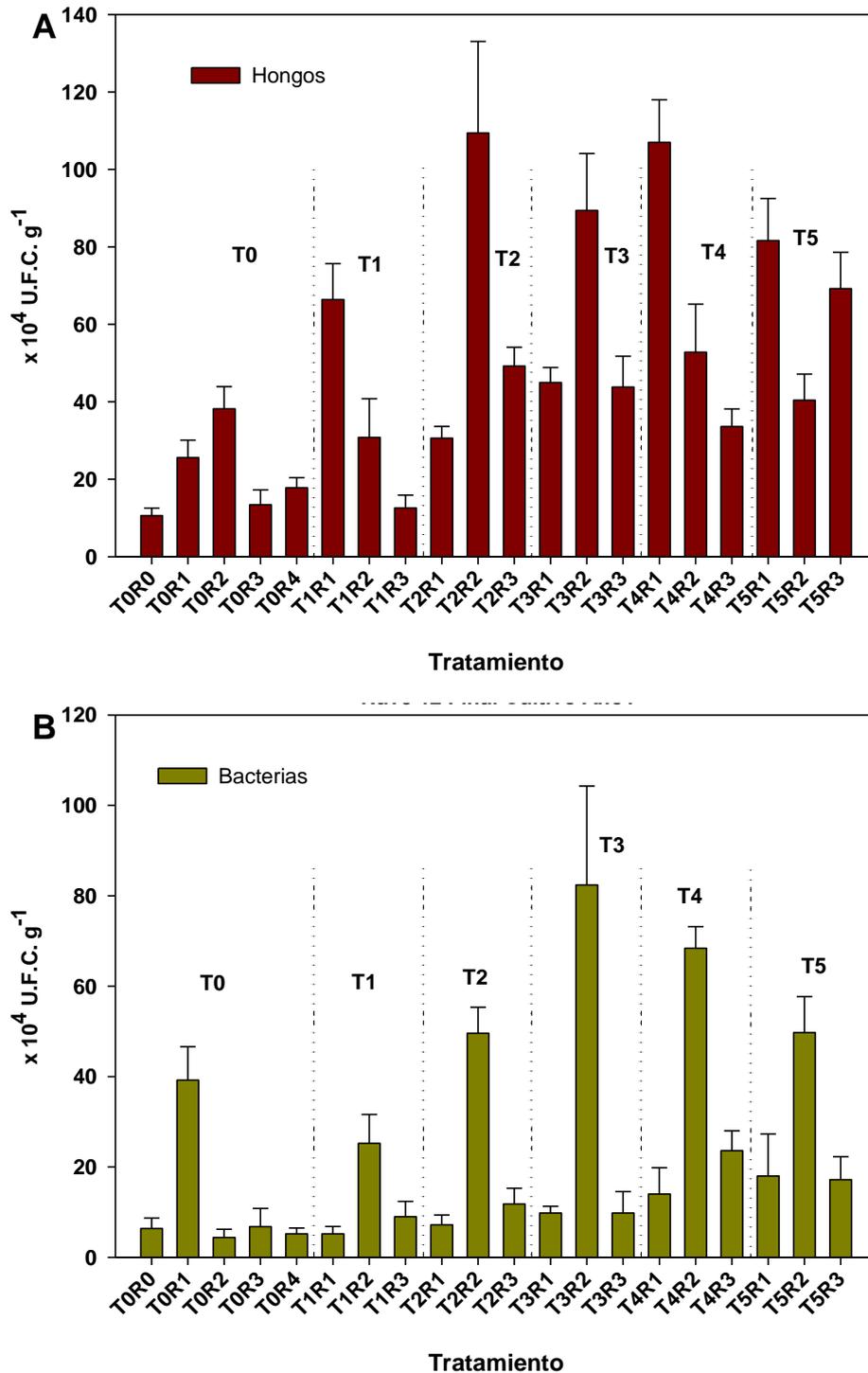


Figura 12. Expresión gráfica global de hongos (A) y bacterias (B) en las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados (promedio±desviación estándar $\times 10^4$ U.F.C. g^{-1} suelo) corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pimiento. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5 kg m^{-2} estiércol + $0,1\text{ kg m}^{-2}$ harina de pluma; T2: $2,5\text{ kg m}^{-2}$ restos de cosecha; T3: 5 kg m^{-2} restos de cosecha; T4: $7,5\text{ kg m}^{-2}$ restos de cosecha; T5: 10 kg m^{-2} restos de cosecha.

Tabla 10. Géneros de hongos aislados de las muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados (promedio±desviación estándar) x 10³ U.F.C. g⁻¹ corresponden al muestreo realizado al finalizar el ciclo de cultivo de pimiento. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas; T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

	T0R0	T0R1	T0R2	T0R3	T0R4	T1R1	T1R2	T1R3
Género fúngico	10⁴ UFC/g¹							
<i>Acremonium</i> spp.	1,00±0,00	3,00±2,74	1,40±1,14	0,60±0,89	1,40±1,67	0,60±0,55	1,20±0,84	2,40±1,82
<i>Alternaria</i> spp.			0,20±0,45				0,40±0,55	
<i>Aspergillus</i> spp.	1,60±0,89	5,20±1,30	0,40±0,55	4,20±2,17	6,40±2,07	2,60±1,52	9,00±2,83	3,20±2,68
<i>Botryotrichum</i> spp.			0,20±0,45				1,20±0,45	
<i>Botrytis</i> spp.								
<i>Candida</i> spp.			0,20±0,45			0,20±0,45		
<i>Cladosporium</i> spp.	2,60±1,82	6,20±1,79	27,80±5,36	5,40±2,30	2,80±1,30	58,00±8,63	5,40±3,44	1,20±0,84
<i>Cylindrocarpom</i> spp.								
<i>Drechslera</i> spp.								
<i>Fusarium</i> spp.	1,80±2,05	1,80±1,10	0,40±0,55	0,20±0,45	0,80±1,10	0,60±0,55	3,40±3,05	0,40±0,55
<i>Geotrichum</i> spp.					0,20±0,45	0,20±0,45		
<i>Gilmaniella</i> spp.	0,20±0,45	0,80±0,84			0,20±0,45			
<i>Gliocladium</i> spp.								
<i>Histoplasma</i> spp.			0,20±0,45					
<i>Humicola</i> spp.	0,20±0,45	0,60±0,89	0,60±0,89	0,40±0,55	0,60±0,55	0,20±0,45	3,00±2,00	1,60±1,14
<i>Mucor</i> spp.		0,60±1,34	0,20±0,45		1,20±0,84			
<i>Penicillium</i> spp.	0,60±0,89	2,40±2,07	2,40±2,79	0,20±0,45	0,80±0,45	1,20±1,10	0,60±0,89	
<i>Phoma</i> spp.			0,20±0,45					
<i>Rhizoctonia</i> spp.								
<i>Rhizopus</i> spp.	0,60±1,34							
<i>Stachybotrys</i> spp.	0,20±0,45	1,40±1,67	1,40±1,52	0,60±0,55	0,60±0,55	0,80±0,45	1,00±1,00	1,00±1,22
<i>Stemphylium</i> spp.			1,20±1,10			0,20±0,45		
<i>Trichoderma</i> spp.								0,20±0,45
<i>Trichurus</i> spp.								
<i>Verticillium</i> spp.				0,40±0,55		0,20±0,45		
No Identificado	1,80±0,45	3,60±1,14	1,40±1,52	1,00±1,41	2,83±0,98	1,60±1,34	5,60±5,32	2,60±1,14
Total Géneros	10	10	15	9	11	12	10	8

Tabla 10. (Continuación)

	T2R1	T2R2	T2R3	T3R1	T3R2	T3R3	T4R1	T4R2	T4R3
Género fúngico					10⁴ UFC/g¹				
<i>Acremonium</i> spp.	4,60±0,89	2,20±0,84	2,40±1,14	3,80±2,05	3,60±1,82	5,40±2,70	16,00±3,67	2,00±1,22	2,40±2,07
<i>Alternaria</i> spp.	0,20±0,45	0,40±0,55		0,20±0,45				0,60±0,89	
<i>Aspergillus</i> spp.	9,00±2,74	10,40±2,30	3,00±2,92	19,80±3,27	72,60±9,45	13,40±4,28	65,20±10,13	34,40±11,61	17,00±1,00
<i>Botryotrichum</i> spp.	0,20±0,45	0,20±0,45		0,60±0,89	0,40±0,55	0,20±0,45		0,20±0,45	0,20±0,45
<i>Botrytis</i> spp.		0,40±0,55		0,20±0,45					
<i>Candida</i> spp.						0,20±0,45			0,20±0,45
<i>Cladosporium</i> spp.	10,20±2,49	64,60±18,41	21,40±4,22	12,40±3,29	2,20±1,92	16,60±4,10	5,60±2,41	1,40±0,89	2,00±1,00
<i>Cylindrocarpom</i> spp.		0,40±0,55							0,60±0,89
<i>Drechslera</i> spp.		0,20±0,45							
<i>Fusarium</i> spp.	1,20±1,30	13,40±3,21	0,60±0,89	1,60±1,34	4,60±2,61	1,60±1,14	3,00±2,00	4,80±1,64	6,00±5,10
<i>Geotrichum</i> spp.						0,20±0,45	0,20±0,45		
<i>Gilmaniella</i> spp.									
<i>Gliocladium</i> spp.		2,00±1,22	15,40±5,22		0,40±0,55	0,20±0,45		0,80±1,30	0,20±0,45
<i>Histoplasma</i> spp.		0,20±0,45							
<i>Humicola</i> spp.	1,20±1,10	6,40±1,52	1,00±1,22	0,80±0,84	1,40±1,14	1,40±1,14	0,80±0,45	3,40±1,67	0,80±0,84
<i>Mucor</i> spp.	0,40±0,89	0,60±0,89	1,80±1,48		0,20±0,45	2,40±1,52			0,40±0,89
<i>Penicillium</i> spp.	0,60±0,89	0,40±0,89	0,20±0,45	2,40±1,82	0,40±0,89	0,20±0,45	14,80±5,12	0,60±0,89	1,20±1,64
<i>Phoma</i> spp.	0,20±0,45								0,40±0,55
<i>Rhizoctonia</i> spp.		0,20±0,45						0,20±0,45	
<i>Rhizopus</i> spp.									
<i>Stachybotrys</i> spp.	0,40±0,55	0,20±0,45	0,20±0,45	0,40±0,55			0,60±0,89	0,60±0,89	0,60±0,55
<i>Stemphylium</i> spp.	0,20±0,45	0,40±0,55		0,20±0,45	0,40±0,55			0,40±0,89	
<i>Trichoderma</i> spp.		0,80±0,84			1,40±0,55				
<i>Trichurus</i> spp.		0,20±0,45							
<i>Verticillium</i> spp.	0,20±0,45		0,20±0,45	0,60±0,55		0,40±0,55	0,40±0,89		1,00±1,00
No Identificado	2,00±1,41	5,50±3,42	3,83±2,71	2,00±2,00	1,80±0,84	1,60±0,55	0,40±0,55	3,25±1,89	1,17±1,60
Total Géneros	14	20	11	13	12	13	10	13	15

Tabla 10. (Continuación)

	T5R1	T5R2	T5R3
<i>Bacterias Total</i>	18,00±9,27	49,75±7,93	17,20±5,07
<i>Hongos Total</i>	81,60±10,90	40,40±6,67	69,20±9,42
Género fúngico	10⁴ UFC/g¹		
<i>Acremonium</i> spp.	2,80±0,84	2,40±1,14	1,40±1,14
<i>Alternaria</i> spp.		0,40±0,55	
<i>Aspergillus</i> spp.	37,40±6,19	15,60±2,19	61,40±8,08
<i>Botryotrichum</i> spp.			
<i>Botrytis</i> spp.			
<i>Candida</i> spp.			
<i>Cladosporium</i> spp.	21,60±4,39	11,60±1,52	2,20±3,27
<i>Cylindrocarpom</i> spp.	0,20±0,45		
<i>Drechslera</i> spp.			
<i>Fusarium</i> spp.	1,00±0,71	0,60±0,89	1,80±0,84
<i>Geotrichum</i> spp.			
<i>Gilmaniella</i> spp.		0,80±1,10	
<i>Gliocladium</i> spp.			
<i>Histoplasma</i> spp.			
<i>Humicola</i> spp.	0,60±0,89	0,80±0,84	0,60±0,89
<i>Mucor</i> spp.	1,80±1,64		
<i>Penicillium</i> spp.	8,60±9,76	1,40±1,52	0,20±0,45
<i>Phoma</i> spp.			0,20±0,45
<i>Rhizoctonia</i> spp.			
<i>Rhizopus</i> spp.			
<i>Stachybotrys</i> spp.	0,40±0,89	0,60±0,89	0,20±0,45
<i>Stemphylium</i> spp.			0,40±0,55
<i>Trichoderma</i> spp.			
<i>Trichurus</i> spp.			
<i>Verticillium</i> spp.	0,40±0,55		0,20±0,45
No Identificado	6,80±3,27	6,20±4,60	0,60±0,55
Total Géneros	11	10	11

La Figura 13 muestra los resultados de forma gráfica del número de géneros fúngicos presentes en las muestras analizadas al finalizar el cultivo de pimiento en el Invernadero 2. No se han detectado diferencias en el número de géneros entre los tratamientos considerados en el estudio que incorporan la práctica de la solarización con o sin previa aplicación de enmiendas orgánicas.

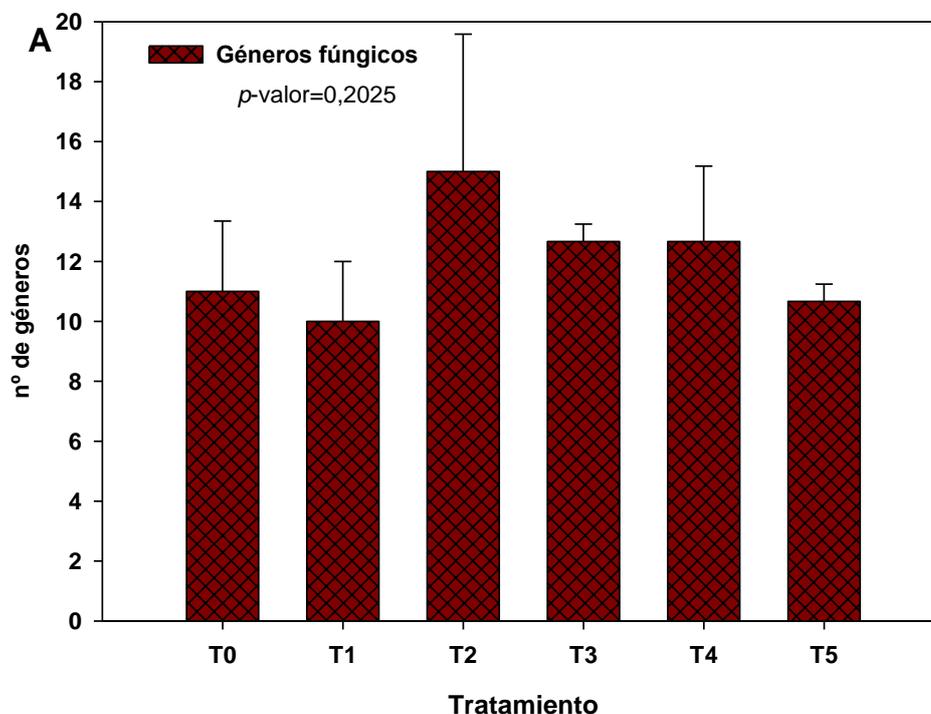


Figura 13. Expresión gráfica del número de géneros fúngicos (A). Los resultados (promedio±desviación estándar) corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pimiento en el Invernadero 2. T0: Sin aporte de enmiendas orgánicas. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

La presencia de oomicetos pertenecientes al género *Pythium* se mantiene en valores similares a las anteriores a la aplicación de la biodesinfección (Tabla 11). En este caso, aunque no son identificados en los suelos de todas las parcelas experimentales, sí que están presentes en algunas parcelas experimentales de todos los tratamientos, por lo que su presencia se muestra independiente del tratamiento realizado.

Tabla 11. Presencia de oomicetos en muestras de suelo analizadas de las parcelas experimentales del Invernadero 2. Los resultados corresponden al muestreo realizado al finalizar el cultivo de pimiento. T1: 5kg m⁻² estiércol + 0,1 kg m⁻² harina de pluma; T2: 2,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T3: 5 kg·m⁻² restos de cosecha; T4: 7,5 kg·m⁻² restos de cosecha; T5: 10 kg·m⁻² restos de cosecha.

Muestra	% presencia	
	<i>Pythium</i> sp.	<i>Phytophthora</i> sp.
T0R0	--	--
T0R1	--	--
T0R2	100,0*	--
T0R3	--	--
T0R4	100,0*	--
T1R1	100	
T1R2	33,3	--
T1R3	66,6	--
T2R1	100	
T2R2	100*	--
T2R3	--	--
T3R1	100*	
T3R2	100	--
T3R3	66,6*	--
T4R1	100*	
T4R2	100	--
T4R3	100	--
T5R1	33,3	
T5R2	66,6	--
T5R3	100,0*	--

*Presencia de *Pythium aphanidermatum*; --= Ausencia

Variación de la microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) a lo largo del ensayo en el suelo del Invernadero 2.

Después de los tratamientos de biodesinfección realizados, la densidad de población de hongos se mantuvo, de forma generalizada, en magnitudes del orden de 10⁵ UFC/g¹, con la excepción del tratamiento que recibió la mayor cantidad de restos vegetales (i.e. T5: Restos de cosecha a razón de 10 kg·m⁻²) en el que se apreció un incremento de la densidad de hongos de una orden de magnitud (Figura 14A), hasta alcanzar valores totales por encima de 10⁶ UFC/g¹. De este modo, tras los tratamientos realizados, el

tratamiento T5 presentó una población de hongos significativamente mayor ($p < 0,05$) que el resto de tratamientos. Así mismo, todos los tratamientos con restos vegetales incrementaron la densidad de población de bacterias, en contraste con el tratamiento con estiércol y harina de plumas, y con el tratamiento control que no recibió ninguna enmienda orgánica, en los que tras los tratamientos no se detectaron grandes modificaciones (Figura 14C).

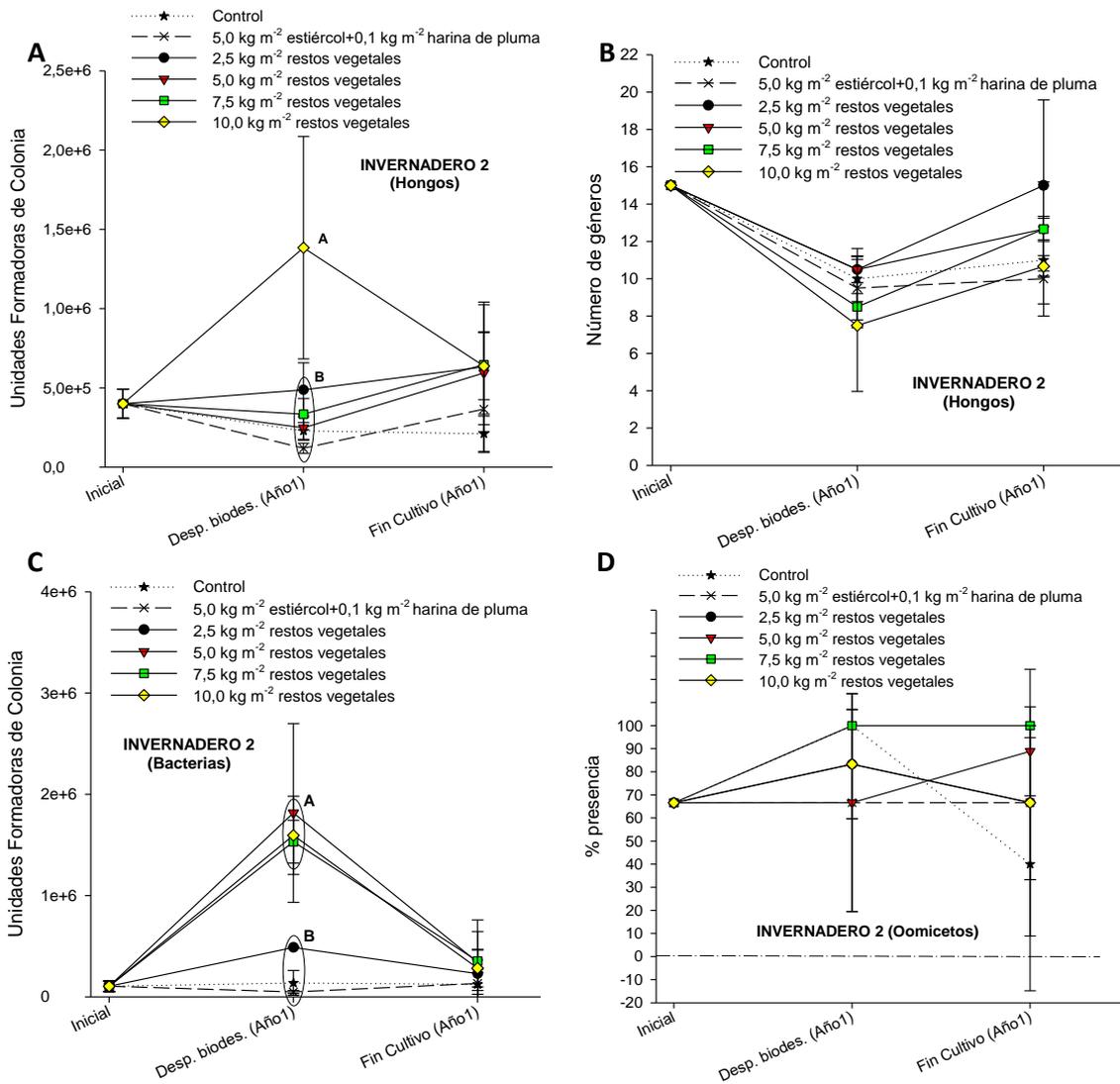


Figura 14. Variación de la microbiota edáfica (hongos, bacterias y oomicetos) en función de las distintas enmiendas orgánicas adicionadas mediante biosolarización en el Invernadero 2. Variación de la densidad total de hongos (A), variación de la diversidad de hongos (B), variación de la densidad total de bacterias (C), y variación de la presencia de oomicetos (D). Valores (media \pm desviación estándar) expresados antes y después de los tratamientos, y al finalizar el ciclo de cultivo de pepino. Diferentes letras denotan diferencias estadísticas ($p < 0,05$) mediante el test de las mínimas diferencias significativas de Fisher (LSD).

En este caso, los tratamientos que recibieron restos de cosecha en cantidades superiores a $2,5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ de (i.e. T3, T4 y T5) incrementaron la población de bacterias en

una orden de magnitud, hasta alcanzar valores totales por encima de 10^6 UFC/g1, presentando así una densidad de población de bacterias significativamente mayor ($p < 0,05$) que el resto de tratamientos.

Al finalizar el cultivo de pimiento, tras cerca de 10 meses desde la finalización de los tratamientos (i.e. 305 días), la población de hongos y bacterias en los suelos que recibieron restos vegetales del cultivo anterior de pimiento fue ligeramente superior que al inicio del ensayo, en contraste con el tratamiento control en el que se aprecia un ligero descenso, y con el tratamiento con estiércol y harina de plumas, que parece mantener las poblaciones en valores muy cercanos a los iniciales. Así, atendiendo a los valores promedio totales, al finalizar el cultivo de pimiento tanto las poblaciones de hongos como las de bacterias fueron superiores en los tratamientos con restos de cosecha en comparación con el tratamiento con estiércol y el tratamiento control, aunque en ningún caso se mostraron diferencias estadísticas, debido principalmente a las elevadas dispersiones en las medidas, que son fruto de la heterogeneidad que los suelos muestran de forma natural. En cualquier caso, de forma generalizada para todos los tratamientos, al finalizar el cultivo de pimiento, las poblaciones de hongos y bacterias alcanzaron valores que estuvieron dentro de la misma orden de magnitud (i.e. 10^5 UFC/g¹).

Atendiendo a la diversidad de hongos, considerada como el número de géneros diferentes identificados, tras los tratamientos se aprecia un descenso generalizado en todos los tratamientos, alcanzando valores promedio comprendidos entre 7,5 y 10,5 géneros, y sin presentar diferencias significativas entre ellos. Al respecto debe considerarse que en este momento de muestreo se identificaron hasta 18 géneros de hongos diferentes. Al finalizar el cultivo de pimiento, la diversidad de hongos asciende hasta valores promedio comprendidos entre 10 y 15 géneros en función del tratamiento, llegándose a identificar hasta un total de 26 géneros de hongos, frente a los 15 géneros iniciales. En este momento tampoco se detectaron diferencias entre los tratamientos considerados en el estudio que incorporan la práctica de la solarización con o sin previa aplicación de enmiendas orgánicas

Tras los tratamientos realizados hay presencia de oomicetos en todos los suelos, que se mantuvo, de forma generalizada, en todos los tratamientos hasta finalizar el cultivo (Figura 14D).

DISCUSIÓN

5. Discusión.

Los resultados del presente estudio sugieren que, en un suelo desnudo, la incidencia de la técnica de biosolarización de suelos agrícolas empleando los restos vegetales del cultivo anterior de pimiento sobre la microbiota fúngica y los oomicetos de la capa superficial del suelo (topsoil), estuvo en función de las fechas y tiempos de aplicación de los tratamientos realizados. Así, los tratamientos realizados en el Invernadero 1 durante 72 días, y que abarcaron parte del mes de abril y los meses de mayo y junio en su totalidad, tuvieron un efecto depresor en la densidad y diversidad fúngica de la capa superficial del suelo, así como en los oomicetos del género *Pythium*, reduciendo estos últimos su presencia hasta alcanzar niveles indetectables mediante el método analítico empleado. Al respecto, el descenso de la microbiota fúngica fue menor en los tratamientos que recibieron enmiendas orgánicas, frente a los tratamientos solarizados sin adición de enmiendas. En contraste, tras los tratamientos realizados en el Invernadero 2 (31 días en total), que abarcaron el mes de abril e inicios de mayo, no se detectaron descensos significativos en las poblaciones de hongos, ni tampoco de oomicetos del género *Pythium*, ya presentes en los suelos antes de realizar los tratamientos. En éste caso, incluso se apreció un incremento significativo de la densidad de hongos tras los tratamientos con restos vegetales a razón de 10 kg·m⁻².

De este modo, la realización de los tratamientos en meses más cálidos y durante un periodo más prolongado, previsiblemente provocó un mayor aumento de temperatura del suelo que, junto con su sostenimiento durante un mayor tiempo, pudo ser la causa principal del mayor efecto depresivo sobre las poblaciones de hongos y oomicetos. (Bigelow 1921; Katan *et al.*, 1976; Pullman *et al.*, 1981). Adicionalmente, también deben considerarse los efectos de las condiciones de anaerobiosis alcanzadas durante los tratamientos biodesinfectantes (Reddy 1987; Strandberg 1987; Blok *et al.*, 2000; Bonanomi *et al.*, 2010), así como de los compuestos generados en la descomposición de la materia orgánica (Brown y Morra 1997; Lazarovits 2004; Arriaga *et al.*, 2011; Núñez-Zofío *et al.*, 2011, 2012), que pudieron ser también factores determinantes en la expresión de los mayores efectos depresivos sobre dichas poblaciones microbianas, dado que, la exposición a estos factores fue también más prolongada en el tiempo. Del mismo modo que en el presente estudio, Marín-Guirao *et al.* (2012) en las condiciones de invernadero de Almería, con suelos cubiertos con acolchado de arena, tras la realización de tratamientos de biodesinfección de suelos (biofumigación y

biosolarización) en el mes de julio, empleando en este caso otras enmiendas orgánicas deshidratadas, también fue evidente el impacto depresor en las poblaciones de hongos y oomicetos de la capa superficial del suelo (topsoil), independientemente de la adición de las enmiendas orgánicas estudiadas, y de la utilización de plástico para solarizar. Así mismo, los tratamientos de biodesinfección (biofumigación y biosolarización) realizados en el Campo de Cartagena (Murcia) en suelos no arenados, e iniciados en el mes de agosto y mantenidos hasta cerca de tres meses, también provocaron descensos de la población fúngica, sin embargo, en esos suelos el descenso no se detectó en las parcelas sin tratar (Martínez *et al.* 2009). Así mismo, y referido a los efectos reportados sobre los oomicetos, de los trabajos de Gamliel *et al.* (2000) se extrae que, cuando el suelo no arenado es solamente solarizado, sin enmienda orgánica, los propágulos de *Pythium ultimum* y *Sclerotium rolfsii* no se vieron inactivados y sí lo hicieron cuando el suelo fue biosolarizado. Del mismo modo, Núñez (2011) concluye que, para un cultivo no arenado de pimiento en invernadero en la Región de Murcia, el éxito de la biodesinfección frente a *Phytophthora capsici*, cuando las condiciones son térmicamente favorables, es independiente del tipo de enmienda orgánica incorporada al suelo. Sin embargo, Guerrero *et al.* (2004) no detectaron a *P. capsici* después de los tratamientos de biosolarización, independientemente de las fechas en las que realizaron tratamientos (Noviembre, Julio y Agosto).

Por otro lado, en el caso de la población de bacterias no se aprecia la disidencia entre los dos invernaderos referida a los efectos observados sobre la microbiota fúngica y los oomicetos, dado que, independientemente de las fechas y tiempos de aplicación de los tratamientos, la adición de restos de cosecha mediante biosolarización incrementó notablemente la densidad de población bacteriana.

En cualquier caso, debe destacarse que, con la excepción del efecto depresor detectado en los oomicetos del género *Pythium* en el Invernadero 1, que se mantuvo incluso al finalizar el cultivo de pepino consecutivo a los tratamientos, se aprecia una tendencia generalizada de las distintas fracciones microbianas evaluadas a reconstituirse, e incluso a incrementarse cuando los tratamientos de biosolarización se realizaron con restos vegetales del cultivo de pimiento. Al respecto, se debe tener en cuenta que, como consecuencia de los diferentes cultivos crecidos en los dos invernaderos, el periodo de tiempo comprendido entre la realización de los tratamientos y el muestreo correspondiente a la finalización de los cultivos comerciales fue notablemente menor en el caso del Invernadero 1 (ciclo pepino ~ 4 meses), en

comparación con el Invernadero 2 (ciclo pimiento ~ 10 meses). Así, el “periodo de reconstitución” de las comunidades fúngicas y de oomicetos fue menor en el invernadero en el que, además, se detectó el mayor efecto depresivo sobre las mismas.

CONCLUSIONES

6. Conclusiones.

Las conclusiones muestran como la incidencia de la técnica de biosolarización de suelos agrícolas sobre las fracciones de la microbiota edáfica evaluadas (hongos, bacterias y oomicetos) estuvo en función de las fechas y tiempos de aplicación de los tratamientos realizados.

1.- En el ensayo donde la duración de los tratamientos de biosolarización fue más prolongada (72 días), y aplicados en los meses más cálidos, hubo un marcado efecto depresor sobre la densidad y diversidad fúngica de la capa superficial del suelo, así como sobre los oomicetos del género *Pythium*. Este efecto fue menor en los tratamientos con restos vegetales del cultivo anterior de pimiento, en los que, además, la densidad de población bacteriana se incrementó notablemente. Al finalizar el cultivo de pepino (aproximadamente 4 meses después de los tratamientos), las poblaciones de hongos y bacterias tendieron a reconstituirse, apreciándose en el caso de los hongos un incremento generalizado tanto en la cantidad como en la diversidad, principalmente en los tratamientos que recibieron los restos vegetales. Por el contrario, el efecto depresor sobre los oomicetos se mantuvo hasta finalizar el cultivo.

2.- En el ensayo donde la duración de los tratamientos de biosolarización fue menor (31 días), y aplicados en fechas menos cálidas, no se apreció un marcado efecto depresivo sobre las poblaciones de hongos, bacterias y oomicetos del suelo, llegándose a detectar un incremento generalizado en la densidad de hongos y bacterias a la profundidad estudiada en los tratamientos que recibieron restos vegetales del cultivo anterior de pimiento. Al finalizar el cultivo de pimiento (aproximadamente 10 meses después de los tratamientos), las poblaciones de hongos y bacterias en las parcelas que recibieron restos vegetales fueron ligeramente superiores a las iniciales, a la vez que la presencia de oomicetos no fue modificada.

BIBLIOGRAFÍA

7. Bibliografía.

- Abiven, S., Menasserri, S., Angers, D.A., Leterme, P. (2007). Dynamics of aggregate stability and biological binding agents during decomposition of organic materials. *European Journal of Soil Science* 58: 239-247.
- Arriaga, H., Núñez-Zofío, M., Larregla, S., Merino, P. (2011). Gaseous emissions from soil biodesinfestation by animal manure on a greenhouse pepper crop. *Crop Protection* 30: 412-419.
- Baker, K.F., Cook, R.J. (1974). *Biological Control of Plant Pathogens*. Freeman, San Francisco, 433pp.
- Bardgett, R.D., Van der Putten, W.H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515: 505–511.
- Barnett, H.L., Hunter, B.B. (1972). *Illustrated Genera of Imperfecti Fungi*, 4th Edition, Macmillan Publishing Company, New York.
- Basallote, M.J., Bejarano, J., Blanco, M.A., Jiménez-Díaz, R.M., Melero, J.M. (1994). La solarización del suelo: una estrategia para controlar enfermedades causadas por organismos de suelo y reducir las alternativas de cultivo. *Investigación Agraria: Fuera de serie*, 2: 207-212.
- Bello, A., López-Pérez, J.A., Díaz-Viruliche, L., Sanz, R., Escuer, M., Herrero, J. (1999). Biofumigation and organic amendments. En: *Regional Workshop on Methyl Bromide Alternatives for North Africa and Southern European Countries*, United Nations Environment Programme (UNEP), Francia, 113-141.
- Bello, A., López-Pérez, J.A., Díaz-Viruliche, L. (2000). Biofumigación y solarización como alternativa al bromuro de metilo. En: J.Z. Castellanos, F. Guerra (Eds.) *Memoria del Simposio Internacional de la Fresa*, Zamora, INCAPA, México, 24-50.
- Bello, A., López-Pérez, J.A., García, A., Arcos, S.C., Ros, C., Guerrero, M. M., Guirao, P., Lacasa, A. (2004). Biofumigación con solarización para el control de nematodos en cultivo de pimiento. En: A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora (eds.). *Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento*. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. *Jornadas* 16: 129-207.
- Bigelow, W.D. (1921). The logarithmic nature of thermal death time curves. *The Journal of Infectious Diseases* 28: 528-536.
- Block, W.J., Lamers, J.G., Termorshuizen, A.J., Bollen, G.J. (2000). Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90: 253-259.
- Boixadera, J., Teira, M.R. (2001). *Aplicación agrícola de residuos orgánicos*. Universitat de Lleida, Lleida (España), 354 pp.
- Bononomi, G., Antignani, V., Capodilupo, M., Scala, F. (2010). Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soilborne plant diseases. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 136-144.
- Bouhot, D. (1983). La fatigue des sols. Position du problème et principe du diagnostic, en: *Societe Francaise de Phytopathologie, La Fatigue des Sols. Diagnostic de la Fertilité dans le Systèmes Cultureux*. Ed. INRA, Paris, pp. 9-21.

- Bronick, C.J., Lal, R. (2005). Soil structure and management: a review. *Geoderma* 124: 3- 22.
- Brown, P.D., Morra, M.J. (1997). Control of soil-borne plant pest using glucosinolate-containing plants. *Advances in Agronomy* 61: 167-231.
- Carrera, L.M., Buyer, J.S., Vinyard, B., Abdul-Baki, A.A., Sikora, L.J., Teasdale, J.R. (2007). Effects of cover crops, compost, and manure amendments on soil microbial community structure in tomato production systems. *Applied Soil Ecology* 37: 247-255.
- Carter, M.R., Angers, D.A., Kunelius, H.T. (1994). Soil structural form and stability, and organic matter under cool-season perennial grasses. *Soil Science Society of America Journal* 58: 1194-1199.
- Cenis, J. L., Fuchs, P. (1988). Efecto comparado de la solarización y el metam sodio en un cultivo de pimiento en invernadero. *ITEA* 75: 21-38.
- Chantigny, M.H., Angers, D.A., Prevost, D., Vézina, L.P., Chalifour F.P. (1997). Soil aggregation and fungal and bacterial biomass under annual and perennial cropping systems. *Soil Science Society of America Journal* 61: 262-267.
- Chellemi, D.O., Olson, S.M., Mitchell, D.J. (1994). Effect of soil solarization and fumigation on survival of soilborne pathogens of tomato in Northern Florida. *Plant Disease* 78: 1167-1172.
- Chellemi, D.O., Olson, S.M., Mitchell, D.J., Secker, I., Mcsorley, R. (1997). Adaptation of soil solarization to the integrated management of soilborne pests of tomato under humid conditions. *Phytopathology* 87: 250-258.
- Coelho, L., Chellemi, D.O., Mitchell, D.J. (1999). Efficacy of soil solarization and cabbage amendment for the control of *Phytophthora* spp. in North Florida. *Plant disease* 83: 293-299.
- Noble, R., Coventry, E. (2005) Suppression of soil-borne plant diseases with composts: A review, *Biocontrol Science and Technology* 15:1, 3-20.
- De Cara, M., Diánez, F., Estrada, F. S., Montoya, S., Téllez, E. J., Santos, M., Tello, J. (2004). Presencia del patotipo 1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* en suelos cultivados de melón en el estado de Colima (Méjico). *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 30: 713-720.
- Delgado-Baquerizo, M., Maestre, F.T., Reich, P.B., Jeffries, T.C., Gaitan, J.J., Encinar, D., Berdugo, M., Campbell, C.D., Singh, B.K. (2016). Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nature communications* 7: 10541. doi:10.1038/ncomms10541.
- Diacono, M., Montemurro, F. (2010). Long-term effects of organic amendments on soil fertility. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30: 401-422.
- Drury, C.F., Stone, J.A., Findlay, W.I. (1991). Microbial biomass and soil structure associated with corn, grasses, and legumes. *Soil Science Society of America Journal* 55: 805-881.
- Ellis, M.B. (1971). Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, CAB International, England. 608 pp.
- Fitz, P. (1980). Suelos. Su formación, clasificación y distribución. Cecsa, Madrid.
- Gallegly, M.E., Hong, C.X. (2008). *Phytophthora: Identifying Species with Morphology and DNA Fingerprints*. APS Press. ST. Paul, MN USA. 158 pp.

- Gamliel, A., Stapleton, J.J. (1993). Effect of soil amendment with chicken compost or ammonium phosphate and solarization on pathogen control, rhizosphere microorganisms and lettuce growth. *Plant Disease* 77: 886-891.
- Gamliel, A., Austerweil, M., Kritsman, G. (2000). Non-chemical approaches to soilborne pest management-organic amendments. *Crop Protection* 19: 847-853.
- Gamliel, A., van Bruggen, A.H.C. (2016). Maintaining soil health for crop production in organic greenhouses. *Scientia Horticulturae* 208: 120-130.
- García-Raya, P., Ruíz-Olmos, C., Marín-Guirao, J.I., Asensio-Grima, C., Tello-Marquina, J.C., de Cara-García, M. (2019). Greenhouse soil biosolarization with tomato plant debris as unique fertilizer for tomato crops. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(2): 279.
- Guerrero, M.M., Lacasa, A., Ros, C., Bello, A., Martínez, M.C., Torres, J., Fernández, P. (2004). Efecto de la biofumigación con solarización sobre los hongos del suelo y la producción: fechas de desinfección y enmiendas. En: II jornadas sobre alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero. Región de Murcia, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente.
- Guerrero, M.M., Lacasa, A., Ros, C., Martínez, M.A., López, J.A., Guirao, P., Bello, A., Torres, J., Martínez, M.C., González, A. (2004). La reiteración de la biofumigación con solarización en la desinfección de suelos de invernaderos de pimiento en: Lacasa A. et al. (Eds.), Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, Región de Murcia, pp. 239-258.
- Gupta, V.V.S.R., Germida, J.J. (1988). Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 777-786.
- Handayani, W. (1996). Soil carbon and nitrogen pools and transformations after 23 years of no tillage and convencional tillage. University of Kentucky, Lexington, 320pp.
- Hattori, H. (1988). Microbial activities in soil amended with sewage sludge. *Soil science and Plant Nutrition* 34: 221-232.
- Haynes, R.J. (1986). The decomposition process: mineralization, inmovilization, humus formation, and degradation. En: R.J. Haynes (ed) Mineral nitrogen in the plant-soil system: 52-109. Academic Press INC, London, United Kingdom. 483 pp.
- Hijbeek, R., van Ittersum, M., ten Berge, H., Gort, G., Spiegel, H., & Withmore, A. P. (2017). Do organic inputs matter—A meta-analysis of additional yield effects for arable crops in Europe. *Plant and Soil* 411: 293–303.
- Hoitink, H.A.J., Fahy, P.C. (1986). Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annual Review of Phytopathology* 24: 93-114.
- Hooper, D.U., Bignell, D.E., Brown, V.K., Brussard, L., Dangerfield, J.M., Wall, D.H., Wardle, D.A., Coleman, D.C., Giller, K.E., Lavelle, P., Van Der Putten, W.H., De Ruiter, P.C., Rusek, J., Silver, W.L., Tiedje, J.M., Wolters, V. (2000). Interactions between above- and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks. *BioScience* 50 (12): 1049–1061.

- Hurtado, M. (2015). Estructura de la comunidad fúngica en suelos cultivados bajo invernadero de las provincias de Almería y Granada, y su relación con el contenido en materia orgánica. Proyecto Final de Carrera. Universidad de Almería. Escuela Politécnica Superior. 149pp.
- Katan, J., Greenberger, A., Alon, H., Grinstein, A. (1976). Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. *Phytopathology* 66: 683-688.
- Katan, J. (1981). Solar heating (solarization) of soil control of soilborne pests. *Annual Reviews of Phytopathology* 19: 211-236.
- Katan, J., De Vay, J.E. (1991). Soil solarization: historical perspective, principles and uses, en: Katan, J. De Vay, J.E. (Eds), Soil Solarization. CRC press, Boca de Ratón (USA), 23-37.
- Katan, J. (1996). Soil solarization: integrated control aspects. En: Hall R., (Ed.), Principle and Practice of Managing Soilborne Plant Pathogens, APS, St Paul, Minnesota, 250-278.
- Katan, J. (2005). Soil disinfection: One minute before Methyl Bromide phase out. Procedures of VIth International Symposium on Chemical and Non-Chemical Soil and Substrate Disinfection. *Acta Horticulturae* 698: 19-25.
- Keeney, D.R., (1982). Nitrogen-availability indexes, en: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), Methods of soil Analysis. Part II. Chemical and Microbiological Properties. SSSA and ASA, Madison (USA), 711-733.
- Kjaer, A. (1976). Glucosinolates in cruciferae. En: J.G.Vaughan, A.J.Macleod, B.M.G.Jones (Eds). The Biology and Chemistry of the Cruciferae, Academic Press, London, 207-219.
- Labrador, J. (2001). La materia orgánica en los agrosistemas. 2ª edición ampliada y corregida. MAPYA, Mundi-Prensa (ed.). 293 pp.
- Larkin, R.P., Honeycutt, C.W., Griffin, T.S. (2006). Effect of swine and dairy manure amendments on microbial communities in three soils as influenced by environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils* 43: 51-61.
- Larkin, R. P., Honeycutt, C. W., Olanya, O.M. (2011). Management of *Verticillium* wilt of potato with disease-suppressive green manures and as affected by previous cropping history. *Plant Disease* 95: 568-576.
- Lazarovits, G. (2004). Managing soilborne plant diseases through selective soil disinfections by a knowledge-based application of soil amendments. *Phytoparasitica* 32: 427-432.
- Lucas, S.T., D'Angelo, E.M., Williams, M.A. (2014). Improving soil structure by promoting fungal abundance with organic soil amendments. *Applied Soil Ecology*, 75: 13-23.
- Lumsden, R.D., Lewis, J.A., Millner, P.D. (1983). Effect of composted sewage sludge on several soilborne pathogens and diseases. *Phytopathology* 73: 1543-1548.
- Lodha, S. (1995). Soil solarization, summer irrigation and amendments for the control of *Fusarium oxysporum f. sp. Cumini* and *Macrophomina phaseolina* in arid soil. *Crop Protection* 14: 215-219.
- Marín, J.I., Boix, A., Ruiz, C., Torrecillas, V., Sánchez, C., Pérez, G., Díaz, M., Tello, J.C. (2012). Efecto de diferentes materias orgánicas en un suelo arenado sobre microbiota fúngica y bacteriana. X Congreso SEAE, Albacete.

- Marín-Guirao, J.I., Tello-Marquina, J.C. (2017). Microbiota edáfica y fatiga de suelo en invernaderos de la provincia de Granada. Pp. 17-36. En I Jornadas de Transferencia Hortofrutícola de CIAIMBITAL. Investigación y Experimentación en Ciencias Agroalimentarias en el Sureste Español-2017. Universidad de Almería, CIAIMBITAL, 254 pp. ISBN 978-84-16389-98-8.
- Marín-Guirao, J.I., De Cara- García, M., Crisol-Martínez, E., Gómez-Tenorio, M.A., García-Raya, P., Tello-Marquina, J.C. (2019). Association of plant development to organic matter and fungal presence in soils of horticultural crops. *Annals of Applied Biology*. 2019; 1-10.
- Martens, D.A. (2000). Plant residue biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 362-369.
- Martínez, M.A., Lacasa, A., Tello, J. (2009). Ecología de la microbiota fúngica de los suelos de los invernaderos y su interés agronómico. Ed. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Centro de publicaciones, Madrid.
- Martinez, L. (2018). La microbiota fusárica de suelos de invernadero y su relación con la materia orgánica y el vigor de plantas en cámara. Trabajo Fin de Máster. Universidad de Almería. Escuela Politécnica Superior. 50pp.
- Mazzola, M. (2004). Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression. *Annual Reviews of Phytopatology* 42: 35-59.
- MBTOC. (2007). Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer. (2006) en: Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee United Nations Environment Programme. UNEP, 453 pp.
- McKellar, M.E., Nelson, E.B. (2003). Compost-induced suppression of *Pythium* damping-off is mediated by fatty-acid metabolizing seed-colonizing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 452-460.
- Mijangos, I. (2009). Impacto de las prácticas agrícolas en la salud del suelo. Tesis doctoral. Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea, 202 pp.
- Mijangos, I., Pérez, R., Albizu, I., Garbisu, C. (2006). Effects of fertilization and tillage on soil biological parameters. *Enzyme and Microbial Technology* 40: 100-106.
- Murphy, D.V., Stockdale, E.A., Brookes, P.C., Goulding, K.W.T. (2007). Impact of microorganisms on chemical transformation in soil, en: Abbott, L.K., Murphy, D.V. (Eds.), *Soil Biological Fertility – A Key to Sustainable Land Use in Agriculture*, Springer, pp. 37–59.
- Núñez, M. (2011). Evaluación de la biodesinfección para el control de *Phytophthora capsici* en el cultivo de pimiento en invernadero. Tesis doctoral. Universidad del País Vasco. 305 pp.
- Núñez-Zofío, M., Larregla, S., Garbisu, C. (2011). Application of organic amendments followed by soil plastic mulching reduces the incidence of *Phytophthora capsici* in pepper crops under temperate climate. *Crop Protection* 30 (12): 1563-1572.
- Núñez-Zofío, M., Larregla, S., Garbisu, C. (2012). Repeated biodesinfección controls the incidence of *Phytophthora* root and crown rot of pepper while improving soil quality. *Spanish Journal of Agricultural Research* 10 (3): 794-805.
- Oka, Y. (2010). Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments – A review. *Applied soil Ecology* 44: 101-115.

- Oka, Y., Saphira, N., Fine, P. (2007). Control of root-knot nematodes in organic farming systems by organic amendments and soil solarization. *Crop Protection* 26: 1556-1565.
- Ozores-Hampton, M. Stansly, P.A., McSorley, R., Obreza, T.A. (2005). Effects of long-term organic amendments and soil solarization on pepper and watermelon growth, yield, and soil fertility. *Hortscience* 40: 80-84.
- Papavizas, G. C., and Davey, C. B. (1960). Some factors affecting growth of *Aphanomyces euteiches* in synthetic media. *American Journal of Botany*, 47: 758-765.
- Paul, E.A., Voroney, R.A. (1989). Field interpretation of microbial biomass activity and measurements, en: Kleng, M.J., Reddy, C.A. (Eds.), *Current Perspective in Microbial Ecology*. American Society of Microbiology, Washington D.C. (USA), 509-514.
- Pankhurst, C.E., Lynch, J.M. (1995). The role of soil microbiology in sustainable intensive agriculture. *Advances in Plant Pathology* 11: 229-247.
- Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (1997). Biological indicators of soil health: Synthesis, en : Pankhurst, C.E., Doube, B.M. Gupta V.V.S.R. (Eds.), *Biological indicators of soil health*. CAB International, Wallingford (USA), 419-435.
- Perdomo, A., Guadalupe, A., Ríos, D., Santos, B. (2000). Efectos de diferentes tratamientos de suelo no agresivos para el control de plagas y enfermedades en zanahorias en Tenerife. *Agrícola Vergel*, 221: 347-352.
- Pérez G. M. (2014). Cuantificación de la microbiota fúngica y bacteriana en el suelo arenado de un cultivo bajo plástico en Almería. Proyecto Final de Carrera. Universidad de Almería. Escuela Politécnica Superior. 149pp.
- Perez-Brandan, C.J. Huidobro, B. Grumberg, M.M. Scandiani, A.G. Luque, J.M. Meriles, Vargas-Gil, S. (2013). Soybean fungal soil-borne diseases: a parameter for measuring the effect of agricultural intensification on soil health. *Canadian Journal of Microbiology* 60: 73-84.
- Plaster, E. (2005). La ciencia del suelo y su manejo. Thomson, Madrid, 132-133.
- Pullman, G.S., De Vay, J.E., Garber, R.H. (1981). Soil solarization and thermal death: Algorithmic relationship between time and temperature for four soilborne plant pathogens. *Phytopathology* 71: 959-964.
- Reddy, K.R. (1987). The effect of flooding on physical, chemical, and microbiological properties of Histosols. 7-22 pp. En: *Agricultural Flooding on Organic Soils*. Bull. 870 Agric. Exp. Stn. Inst. Food Agric. Sci. G. H. Snyder, ed. University of Florida, Gainesville.
- Reeves, D.W. (1997). The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil Tillage Research* 43: 131-167.
- Rodríguez-Molina, M.C. (1996). Ensayo de caracterización de suelos agrícolas y forestales de Extremadura tomando como indicadores a *Fusarium* Link y *Pythium* Pringsheim: La representatividad del muestreo. *Tesis Doctoral*, EPSIA Madrid, Madrid, 209 pp.
- Rosen, C.J., Allan D.L. (2007). Exploring the benefits of organic nutrient sources for crop production and quality. *HortTechnology* 17 422-430.

- Ruiz, C. (2017). Evaluación de la reiteración de la biosolarización sobre la microbiota edáfica en un suelo cultivado con un tomate bajo invernadero. Trabajo Fin de Máster. Universidad de Almería. Escuela Politécnica Superior. 62pp.
- Schutter, M.E., Sandeno, J.M., Dick, R.P. (2001). Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 34: 397-410.
- Siciliano, S.D., Palmer, A.S., Winsley, T., Lamb, E., Bissett, A., Brown, M.V., Van Dorst, J., Ji, M., Ferrari, B.C., Grogan, P., Chu, H., Snape, I. (2014). Soil fertility is associated with fungal and bacterial richness, whereas pH is associated with community composition in polar soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 78: 10-20.
- Strandberg, J.O. (1987). The effect of flooding on plant pathogen populations. En: Agricultural Flooding of Organic Soils. Bull. 870 Agric. Exp. Stn. Inst. Food Agric. Sci. G. H. Snyder, ed. University of Florida, Gainesville.
- Szczecz, M.M. (1999). Suppressiveness of vermicompost against *Fusarium* wilt of tomato. *Journal of Phytopathology* 147: 155-161.
- Szczecz, M.M., Smolinska, U. (2001). Comparison of suppressiveness of vermicompost produced from animal manures and sewage sludge against *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan var. *nicotianae*. *Journal of Phytopathology*, 149: 77-82.
- Tello, J.C., Vares, F., Lacasa, A. (1991). Análisis de muestras, 39-48. En: Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos. MAPA, Madrid, 485 pp.
- Tello J.C.; Lacasa A. (2004). Las enfermedades de origen edáfico y su control en los pimentonales del Campo de Cartagena. Una interpretación retrospectiva del sexenio 1979-1985". Desinfección de suelos en invernaderos de pimientos. Ed.: Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, 11-26 pp.
- Tello, J.C., Palmero, D., de Cara, M., Moreno, A., Santos, M. (2011). El suelo como "ente vivo" y su relación con las enfermedades de las plantas. En: Meco, R., Lacasta C., Moreno, M.M. (coords.) Agricultura Ecológica en Secano. Soluciones sostenibles en ambientes mediterráneos. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, SEAE, Ediciones Mundi-Prensa.
- Tiessen, H., Cuevas, E., Chacon, P. (1994). The role of soil organic matter in sustaining soil fertility. *Nature* 371: 783-785.
- Tikhonovich, I.A., Provorov, N.A. (2011). Microbiology is the basis of sustainable agriculture: An opinion. *Annals of Applied Biology* 159: 155-168.
- Tisdall, J.M. (1991). Fungal hyphae and structural stability of soil. *Australian Journal Of Soil Research* 29: 729-743.
- Torrecillas, V. M. (2016). Efecto de la adición de materia orgánica aplicada con y sin solarización a un suelo arenado sobre la microbiota fúngica y bacteriana. Trabajo monográfico. Universidad de Almería. Escuela Politécnica Superior. 154pp.
- Valera, D.L., Belmonte, L.J., Molina-Aiz, F.D., López, A., Camacho, F. (2017). The greenhouses of Almería, Spain: Technological analysis and profitability. *Acta Horticulturae* 1170: 219-226.

- Van der Plaats-Niterink, J. (1981). Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology* 21: 1-244.
- Wardle, D.A. (1992). A comparative-assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil: *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 67: 321-358.
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., Van der Putten, W.H., Wall, D.H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science* 304: 1629–1633.
- Watt, M., Kirkegaard, J.A., Passioura, J.B. (2006). Rhizosphere biology and crop productivity—A review. *Australian Journal of Soil Research* 44: 299–317.