

Subproductos agroindustriales utilizados para biosolarización reducen la incidencia de patógenos del suelo en invernaderos de pimiento

Alfredo Lacasa^{1,*}, Carmen María Lacasa², Jerónimo Torres², Victoriano Martínez², Caridad Ros², María del Mar Guerrero², Pedro Fernández³, Paula Serrano-Pérez⁴ y María Carmen Rodríguez-Molina⁴

¹ C/ Almirante Malaspina, 3, 3°C, 30007 Murcia, España

² Biotecnología y Protección de Cultivos, IMIDA, C/ Mayor s/n, 30150 La Alberca, Murcia, España

³ OCA Vega Alta, C/ Polígono S, 8, 30530 Cieza, Murcia, España

⁴ Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), Centro de Agricultura Ecológica y de Montaña, Avda. de España, 43. 10600 Plasencia, Cáceres, España

Resumen

Phytophthora capsici Leonnian, *P. nicotianae* Breda de Haan y *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood son los principales patógenos del suelo en los invernaderos del Campo de Cartagena (Murcia) donde el pimiento es un monocultivo de 8-9 meses de duración, reiterado desde hace más de 25 años en más del 90 % de la superficie. En tres invernaderos se ha evaluado la torta de colza (TC) y la mezcla de bagazo de cerveza + estiércol fresco de ovino (BC+EFO) como enmiendas para la biosolarización, en comparación con suelo desinfectado con fumigantes químicos o no desinfectado. La biosolarización con las dos enmiendas redujo significativamente la viabilidad de las oosporas de *P. capsici* enterradas a 15 cm y 30 cm, el inóculo natural de *P. nicotianae*, la incidencia de *P. nicotianae* (% plantas muertas) y de *M. incognita* (índice de agallas y % plantas infestadas) en el cultivo de pimiento, tanto si se inició el tratamiento en agosto como en septiembre y en menor proporción si se inició en octubre, al mismo nivel que los desinfectantes químicos (1,3-dicloropropeno +cloropicrina o dazomet). La biosolarización con TC o BC+EFO mejoró la cosecha comercial entre el 120 % (invernaderos con baja población de *M. incognita* o *P. nicotianae*) y el 170 % (invernadero con altas poblaciones del nematodo y del oomiceto). La biosolarización con subproductos agroindustriales se presenta como una forma eficaz de desinfección del suelo para el cultivo del pimiento, pudiéndose realizar en fechas compatibles con el ciclo habitual del cultivo en el Campo de Cartagena (Murcia).

Palabras clave: Torta de colza, bagazo de cerveza, estiércol, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora capsici*, *Meloidogyne incognita*, biodesinfección.

* Autor para correspondencia: alacasaplasencia@gmail.com

Cita del artículo: Lacasa A, Lacasa CM, Torres J, Martínez V, Ros C, Guerrero MM, Fernández P, Serrano-Pérez P, Rodríguez-Molina MC (2022). Subproductos agroindustriales utilizados para biosolarización reducen la incidencia de patógenos del suelo en invernaderos de pimiento. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(2): 181-197. <https://doi.org/10.12706/itea.2021.026>

Agroindustrial byproducts used in biosolarization reduce the soilborne pathogens incidence in greenhouse pepper crops

Abstract

Phytophthora capsici Leonnian, *P. nicotianae* Breda de Haan and *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood are the major soilborne pathogens in greenhouses of Murcia Region (southeastern Spain), where pepper crop is a repeated monoculture lasting between eight to nine months for the last 25 years in more than 90 % of the surface. The effect of biosolarization with rapeseed cake (TC), and a mix of beer bagasse and fresh sheep manure (BC+EFO) on *P. capsici*, *P. nicotianae* and *M. incognita* has been evaluated in three greenhouses in comparison with the application of chemical disinfectants and with no soil disinfection. Biosolarization with both amendments significantly reduced the viability of oospores of *P. capsici* for two soil depth (15 cm and 30 cm), the natural inoculum of *P. nicotianae* and the incidence of *P. nicotianae* (% of dead plants) and *M. incognita* (galls index and % infested plants) whether the treatment was started in August or in September, and in a lower proportion if it was started in October, at the same level as the chemical disinfectants (1,3-dichloropropene + chloropicrin or dazomet). Biosolarization with TC or BC+EFO improved commercial yield between 120 % (greenhouses with low population of *M. incognita* or *P. nicotianae*) and 170 % (greenhouses with high populations of nematode and the oomycete). Biosolarization with both byproducts is an effective way for soil disinfection for peppers crops, on dates compatible with the usual crop cycle in the Murcia Region.

Keywords: Rapeseed cake, beer bagasse, manure, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora capsici*, *Meloidogyne incognita*, biodisinfestation.

Introducción

Phytophthora capsici Leonnian, *P. nicotianae* Breda de Haan y *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood son los principales patógenos del suelo en los invernaderos del Campo de Cartagena (Murcia) (Guerrero et al., 2013; Lacasa et al., 2013; Blaya et al., 2014), donde el pimiento es un monocultivo, de 8-9 meses de duración, desde hace más de 30 años en más del 90 % de la superficie (Lacasa et al., 2010).

Hasta 2005, la desinfección del suelo con bromuro de metilo fue la forma de paliar los efectos de las enfermedades telúricas (Lacasa et al., 2010). La mezcla de 1,3-dicloropropeno y cloropicrina sustituyó al bromuro de metilo por su amplio espectro de acción. Sin embargo, su uso en la actualidad está limitado (Reglamento (CE) 1107/2009 y Directiva 91/414/CEE, relativa a la comercialización de productos).

La "biodesinfección" es un término poco específico, referido a la acción que sobre los patógenos de las plantas tienen las sustancias que se originan durante la descomposición de la materia orgánica en el suelo. Las denominaciones "biosolarización" (Ros et al., 2008), "biological soil disinfestation" (Blok et al., 2000), "soil reductive sterilization" (Yossen et al., 2008), "reductive soil disinfestation" (Katase et al., 2009) o "anaerobic soil disinfestation" (Butler et al., 2012; Roskopf et al., 2014; Serrano-Pérez et al., 2017a) hacen referencia a las condiciones originadas o forzadas durante el proceso de descomposición de la materia orgánica. La eficacia de la biodesinfección se puede incrementar aumentando la temperatura durante el proceso, (biosolarización o solarización con enmiendas orgánicas), así como por los fenómenos de anaerobiosis que se pueden generar. El término "biofumigación" se utiliza cuando la materia orgánica incorporada procede del cultivo de

plantas de la familia de las crucíferas. Los glucosinolatos naturales que se generan en la descomposición de las brasicas dan lugar a sustancias con acción fungicida y nematocida, destacando los alil y metil isotiocianatos (Garniel y Stapleton, 1997; Kirkegaard, 2014).

En sistemas donde no se inducen condiciones de anaerobiosis, la elección del material biodesinfectante parece un elemento crítico para el control de los patógenos (Butler et al., 2012). Sin embargo, Bonanomi et al. (2007) indican que este factor no es tan determinante para obtener eficacias agrónomicamente admisibles, ya que la eficacia resulta ser el compendio de todos los mecanismos (toxicidad de sustancias liberadas, anaerobiosis, supresividad, efecto sobre las características químicas y físicas del suelo, etc.) que tienen lugar durante el proceso de descomposición de la materia orgánica.

Algunos subproductos agroindustriales han mostrado ser enmiendas adecuadas para la biodesinfección, además de buenos abonos orgánicos. La vinaza de remolacha tiene un gran potencial biodesinfectante (Santos et al., 2008; Lacasa et al., 2010; Núñez-Zofío et al., 2013) al mismo tiempo que puede ser un buen restaurador del suelo, cuando se utiliza como abono orgánico (Tejada et al., 2008), ya que mejora la fertilidad del suelo y las producciones (Núñez-Zofío et al., 2013). El salvado de arroz, el bagazo de cerveza, el orujo de vid y la torta de colza son subproductos que han resultado eficaces en la reducción de la infectividad de *P. nicotianae* en biodesinfecciones realizadas en primavera en Extremadura (Serrano-Pérez et al., 2017a). Los productos derivados de la extracción de aceite de las semillas de brasicas con elevado contenido en glucosinolatos se muestran también efectivos para el control de patógenos fúngicos y de nematodos (Guerrero et al., 2010 y 2013; Núñez-Zofío et al., 2012; Serrano-Pérez et al., 2017b), así como el enterrado de cultivos de brasicas en verde, incluso en épocas de

baja radiación y temperatura (Gandariasbeitia et al., 2019). A la acción directa sobre los patógenos de los compuestos derivados de las brasicas se añade la acción sobre la microbiota fúngica no patógena, que en el caso del pimiento está implicada en los fenómenos de una fatiga del suelo específica para el cultivo (Guerrero et al., 2014), constituyendo las especies de *Fusarium* la componente fúngica principal de los suelos fatigados de pimiento (Martínez et al., 2011).

En la actualidad, la biosolarización se aplica en el 20-30 % de los invernaderos de pimiento de la Región de Murcia, utilizando estiércol fresco o semicompostado de ovino. La reiteración, en el mismo suelo, se muestra eficaz para el control de *Phytophthora* spp. y de *Meloidogyne*, si se inicia en agosto (Guerrero et al., 2005), pero en algunos invernaderos y años presenta deficiencias en el control del nematodo (Guerrero et al., 2013, Ros et al., 2016 y 2018). Cuando la biosolarización se inicia después de la primera semana de septiembre la eficacia se reduce, presentando deficiencias en el control de los dos patógenos (Guerrero et al., 2010 y 2013; Lacasa et al., 2010). A pesar de estas limitaciones, hay interés en la utilización de métodos no químicos como la biodesinfección en la producción de hortalizas, en particular en el cultivo del pimiento ecológico por ser una práctica sostenible y respetuosa con el medio ambiente, siempre que se utilicen las enmiendas adecuadas. La aplicación de la biosolarización en fechas adecuadas para que resulte eficaz supone el adelantar el final del cultivo del pimiento un par de meses y la pérdida de una parte de la cosecha potencial (Guerrero et al., 2013; Shennan et al., 2014). En la Región de Murcia los primeros ensayos de biosolarización con subproductos agroindustriales, indican que el déficit térmico de las desinfecciones iniciadas en fechas posteriores a la primera semana de septiembre se puede paliar, en parte, con el efecto suplementario de

la enmienda (vinaza de remolacha (Lacasa et al., 2010; Núñez-Zofío et al., 2013) o pellets de *Brassica carinata* (Guerrero et al., 2013). Similares efectos se han obtenido realizando la biosolarización en épocas de baja radiación y temperatura en el oeste o en el norte de España, con restos o subproductos de brasicas (Serrano-Pérez et al., 2017a; Gandariasbeitia et al., 2019).

Las restricciones en el uso de estiércoles en la comarca del Campo de Cartagena (Murcia) por riesgos medioambientales, han llevado a la sustitución de las enmiendas habituales por otras. En invernaderos con cultivos comerciales convencionales y ecológicos nos planteamos evaluar dos subproductos agroindustriales como enmiendas para la biosolarización, iniciada en varias fechas, algunas compatibles con el ciclo del pimiento en el Campo de Cartagena (Murcia). El objetivo de este estudio es la evaluación del efecto de dos enmiendas orgánicas en biosolarización sobre el inóculo de *Phytophthora capsici* enterrado en el suelo antes de la desinfección, sobre el inóculo de *P. nicotianae* presente de forma natural en los suelos de los invernaderos, sobre la incidencia del oomiceto y de *M. incognita* en el posterior cultivo y sobre su producción.

Material y métodos

Enmiendas orgánicas

Se evaluaron dos enmiendas orgánicas: torta de colza (TC), bagazo de cerveza (BC) con estiércol fresco de ovino (1:1 p:p), y estiércol fresco de ovino solo (EFO) como referencia. La torta de colza fue proporcionada por NEIKER Tecnalia de Arkaute (Álava) y fue el subproducto de la extracción del aceite de las semillas de *Brassica napus* L., con la siguiente composición: N total 4,16 %, proteína bruta 26,0 %, grasa bruta 26,0 % y cenizas 5,8 %. La mezcla de bagazo de cerveza (subpro-

ducto de la fabricación de cerveza) y estiércol fresco de ovino fueron suministrados por Orgánicos Pedrín S.L. (Abarán, Murcia) y sus características eran: pH 7,17; MO total 27,19 %; C/N 16,67; N orgánico 0,89 %; N total 0,89 %; P₂O₅ 0,71 % y K₂O 1,32 %. El estiércol fresco de ovino fue suministrado por Orgánicos Pedrín, con pH 8,31; MO total 54,8 %; C/N 18,64; N orgánico 1,71 %; N total 1,71 %; P₂O₅ 0,90 % y K₂O 4,28 %.

Establecimiento de los ensayos

Los ensayos se realizaron en tres invernaderos comerciales del Campo de Cartagena (Murcia), dos de ellos con cultivos convencionales (IK, IAT) y uno calificado como agricultura ecológica (IMSP). Los suelos de la zona son franco arcillosos (calcisoles háplicos *Haplocalcids*), pH entre 7,8 y 8,2 y MO entre 2,2 % y 2,6 %. En los tres invernaderos se había cultivado ininterrumpidamente pimiento durante los últimos 26 años (IK), 15 años (IAT) y 10 años (IMSP) y sus suelos estaban contaminados naturalmente con *P. nicotianae* y *M. incognita*. Los niveles de daño por *P. nicotianae* (% de plantas muertas (pPn)) y de infestación por *M. incognita* (índice medio de agallas (iaMi)) en el cultivo precedente fueron altos en los invernaderos con cultivos convencionales (pPn >35 %, iaMi >5 en IK y pPn >80 %, iaMi >6 en IAT) y niveles bajos (pPn <5 %, iaMi <3) en el invernadero ecológico IMSP. En los invernaderos con cultivos convencionales se desinfectaba todos los años con 1,3-dicloropropeno (1,3-D) + cloropicrina (Pic) (67:33) a 50 g/m². En el IMSP se realizaba anualmente una biosolarización con EFO a 4 Kg/m². En IAT se venía desinfectando todos los años con 1,3-D+Pic (67:33) a 50 g/m² y el año precedente al ensayo mediante biosolarización (4 Kg/m²), iniciada en octubre.

El diseño experimental fue de bloques al azar, con tres repeticiones por tratamiento. Los tratamientos fueron: i) TC a 1 Kg/m²; ii)

BC+EFO a 4 Kg/m² en los tres invernaderos y iii) EFO a 4 Kg/m² en IAT y IMSP. En IK se tuvo como referencia el suelo desinfectado con 1,3-dicloropropeno + cloropicrina (Agrocelhona NE, Agroquímicos de Levante, Valencia) a 50 g/m² aplicado "in line" bajo plástico de PE (polietileno) de 0,05 mm y dazomet a 60 g/m² (Basamid G 98 % de Certis B.V.) aplicado a todo terreno, bajo plástico VIF (virtual impermeable film) de 0,04 mm (Sotrafa S.A., Almería), y también se incluyó un testigo sin plástico ni enmienda. En IMSP se añadió un tratamiento de solarización (sin enmienda orgánica) como referencia. Las parcelas elementales fueron de 44 m² en IK, 40 m² en

IMSP y 48 m² en IAT. Las enmiendas se enterraron con una labor de rotovator, luego se instaló el sistema de riego por goteo (emisores de 2,5 L/h a 0,40 m y líneas a 0,50 m), se cubrió el suelo con una lámina de plástico de polietileno (PE) de 0,05 mm (Sotrafa S.A. Almería) y se regó durante 4 h un día y 3 h al día siguiente. Los tratamientos se iniciaron en agosto de 2012 en IMSP, en septiembre de 2013 en IAT y septiembre de 2012 y octubre de 2013 en IK. El plástico se mantuvo durante 6 semanas. Finalizados los tratamientos, se plantó el pimiento en diciembre y los cultivos se prolongaron hasta el verano del año siguiente (Tabla 1).

Tabla 1. Variedad de pimiento cultivada, fecha de inicio de la biosolarización, fecha del trasplante y del final del cultivo en cada invernadero.

Table 1. Pepper cultivar used, biosolarization start date, transplant date and end of crop in each greenhouse.

| Invernadero | Biosolarización | Trasplante | Final cultivo | Variedad |
|-------------|-----------------|------------|---------------|-----------------------------|
| IAT | 13/09/2013 | 19/12/2013 | 06/08/2014 | Gacela (Syngenta Seeds) |
| IMSP | 17/08/2012 | 18/12/2012 | 05/08/2013 | Sinfony (Rijk Zwaan Seeds) |
| IK (2012) | 19/09/2012 | 20/12/2012 | 24/09/2013 | Traviata (Rijk Zwaan Seeds) |
| IK (2013) | 09/10/2013 | 17/12/2013 | 01/09/2014 | Traviata (Rijk Zwaan Seeds) |

Medida de la temperatura y efecto sobre el inóculo de *P. capsici* enterrado

Antes de colocar el plástico se instalaron sondas de temperatura conectadas a un datalogger Hobo H8-4 32K (Onset Computer Corporation, Pocasset, MA), con registro continuo de datos y lectura cada 30 min, a 15 cm y 30 cm de profundidad en las parcelas biosolarizadas. No se dispuso de registros en las solarizadas del invernadero IMSP.

Para determinar el efecto en la supervivencia de las oosporas de *P. capsici*, antes de poner el plástico, en tres puntos de cada parcela

elemental se enterró, a 15 cm y 30 cm una bolsita hecha con malla de 15 µm (CISA, Barcelona) en cuyo interior se pusieron 3 mallas de 25 µm en las que se fijaron unas 1.000 oosporas, por filtrado en vacío (Núñez-Zofío et al., 2012). La viabilidad de las oosporas después de la biosolarización se determinó por el método de la plasmólisis (Jiang y Erwin, 1990). De cada bolsita (punto, profundidad) se observaron 100 oosporas en el microscopio para estimar el porcentaje de las viables (plasmolizadas). Para la producción de las oosporas de *P. capsici* se utilizó el método descrito por Núñez-Zofío et al. (2011).

Efecto sobre el inóculo natural de *P. nicotianae*

Antes y después de la desinfección, en 3 puntos de cada parcela elemental, se tomaron muestras de suelo entre 10 cm y 25 cm de profundidad. Las muestras se emplearon para realizar bioensayos. Plantas de pimiento cv. Jaranda con 3-4 hojas verdaderas se trasplantaron a macetas que contenía 1 L de tierra de cada muestra (1 planta por cada muestra de tierra). Las macetas se mantuvieron en un invernadero climatizado durante 2 meses, realizándose observaciones semanales de los síntomas y analizando las plantas sintomáticas en medio PARPH selectivo para *Phytophthora* spp. (Jeffers y Martin, 1986). Los resultados se expresan como porcentaje de muestras de suelo en las que se detectó *P. nicotianae* en la planta indicadora de cada maceta.

Incidencia de *P. nicotianae* y de *M. incognita* en el cultivo de pimiento posterior a la desinfección

Todas las semanas se contabilizó el número de plantas con síntomas de marchitez, arrancando aquellas en las que la marchitez era irreversible, para analizar las lesiones del cuello y de las raíces por los métodos habituales, utilizando medio general PDA y específico PARPH, y el suelo rizosférico por el método descrito por Tello et al. (1991), empleando pétalos inmaduros de clavel como trampas vegetales. La incidencia se expresó como porcentaje de plantas muertas.

La incidencia de *M. incognita* se evaluó al final del cultivo. Se arrancaron 10 plantas de cada parcela elemental, se lavaron las raíces y se anotó el número de plantas con agallas y el índice de agallas, según la escala 0 a 10 de Bridge y Page (1980).

Producción comercial

En cada recolección se clasificaron los frutos en categorías comerciales y se pesaron los de cada categoría. La producción comercial es la suma de las categorías extra, primera, segunda y tercera, expresadas en Kg/m².

Análisis estadístico

Los datos de temperatura se procesaron con el programa HOBBO. Se calculó el número de horas con temperaturas por encima de las consideradas críticas (se tomaron como referencia 35 °C y 40 °C), por limitar el desarrollo y la multiplicación de los oomicetos y del nematodo.

Se hicieron análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de viabilidad de las oosporas de *P. capsici*, del porcentaje de plantas afectadas por *P. nicotianae* en los bioensayos, el de las plantas muertas en los invernaderos, y del porcentaje de plantas infestadas con agallas en las raíces, transformando los datos previamente mediante la función arcosen \sqrt{x} . Los datos de producción e índice de agallas en las raíces [transformados mediante $\log_{10}(x+1)$], también fueron analizados con ANOVA, utilizando el software Statgraphics Centurion 16. La comparación entre medias de los tratamientos se realizó utilizando el test LSD (*Least Significant Difference*) al 95 % ($p < 0,05$). En los bioensayos se comparó la incidencia de la enfermedad (número de plantas afectadas por el oomiceto) antes y después de la aplicación de cada tratamiento mediante el test no paramétrico de Wilcoxon ($p < 0,05$).

Resultados

Temperaturas del suelo

En ningún invernadero se registraron temperaturas del suelo superiores a 45 °C. Durante la biosolarización, el número de horas acumuladas en las que la temperatura del suelo fue superior a 40 °C disminuyó al au-

mentar la profundidad (Tabla 2). En todos los invernaderos, la temperatura en el suelo no biosolarizado fue inferior a 30 °C en los ensayos de septiembre y octubre (IK). En el invernadero IK no se superaron los 40 °C en ninguno de los tratamientos en los dos años, siendo la temperatura máxima de 37,8 °C en 2012 y de 36,1 °C en 2013.

Tabla 2. Tiempo acumulado con temperaturas superiores a 35 °C y a 40 °C a 15 cm y 30 cm en los invernaderos IMSP, IAT, IK.

Table 2. Number of cumulative hours with temperature over 35 °C and 40 °C at 15 cm and 30 cm soil depth in greenhouse IMSP, IAT and IK.

| Tratamiento/Profundidad | IMSP (2012)* Agosto | | IAT (2013) Septiembre | | IK (2012) Septiembre | IK (2013) Octubre |
|-------------------------|------------------------|-------|--------------------------|-------|-------------------------|----------------------|
| | >35°C | >40°C | >35°C | >40°C | >35°C | >35°C |
| TC/15 cm | 713,5 | 213,0 | 932,0 | 0,0 | 41,0 | 70,0 |
| TC/30 cm | 889,5 | 19,5 | sd | sd | 0,0 | 0,0 |
| BC+EFO/15 cm | sd | sd | 872,0 | 73,5 | 32,5 | 71,5 |
| BC+EFO/30 cm | 843,5 | 64,0 | 777,5 | 64,0 | 36,5 | 0,0 |
| EFO/15cm | 699,0 | 234,0 | 733,0 | 79,0 | – | – |
| EFO/30 cm | 867,5 | 50,0 | 804,5 | 0,0 | – | – |
| Testigo/15 cm | – | – | – | – | 0,0 | 0,0 |
| Testigo/30 cm | – | – | – | – | 0,0 | 0,0 |

* No se dispone de datos del tratamiento de Solarización; sd = sin datos.

TC = Torta de colza; BC = Bagazo de cerveza; EFO = Estiércol fresco de ovino.

Efecto sobre el inóculo de P. capsici enterrado

En el invernadero IMSP no se encontraron diferencias ($p < 0,05$) entre tratamientos a ninguna de las profundidades en la viabilidad de las oosporas (Tabla 3).

En los invernaderos con cultivos convencionales, cuando la biosolarización se inició en septiembre sí se apreciaron diferencias ($p < 0,05$) entre tratamientos: en el invernadero IAT la

viabilidad fue significativamente menor en los tratamientos BC+EFO y TC que en EFO; en el invernadero IK (2012) los tratamientos BC+EFO y TC redujeron la viabilidad de forma significativa en relación al testigo y al mismo nivel que los desinfectantes químicos a las dos profundidades, salvo con el Dazomet a 15 cm (Tabla 3).

El tratamiento BC+EFO en octubre del invernadero IK (2013) redujo la viabilidad de las oosporas en relación al testigo ($p < 0,05$)

Tabla 3. Viabilidad (% de supervivencia) de las oosporas de *Phytophthora capsici* a 15 cm y 30 cm de profundidad.

Table 3. Viability (% survival) of *Phytophthora capsici* oospores at 15 cm and 30 cm depth.

| Tratamiento | IK 2012 septiembre | | IK 2013 octubre | | IMSP agosto | | IAT septiembre | |
|--------------|--------------------|--------|-----------------|--------|-------------|--------|----------------|--------|
| | 15 cm | 30 cm | 15 cm | 30 cm | 15 cm | 30 cm | 15 cm | 30 cm |
| TC | 6,0 b | 7,0 bc | 10,0 a | 8,0 b | 4,0 ns | 4,0 ns | 5,0 b | 2,0 b |
| BC+EFO | 7,0 b | 8,0 bc | 2,0 bc | 5,0 bc | 3,0 | 4,0 | 6,0 b | 3,0 b |
| 1,3-D+Pic | 10,0 b | 17,0 b | 0,0 c | 2,0 c | – | – | – | – |
| Dazomet | 3,0 c | 4,0 c | 5,0 b | 4,0 bc | – | – | – | – |
| EFO | – | – | – | – | 5,0 | 6,0 | 15,0 a | 44,0 a |
| Solarización | – | – | – | – | 4,0 | 5,0 | – | – |
| Testigo | 22,0 a | 31,0 a | 14,0 a | 24,0 a | – | – | – | – |

Los valores seguidos de distinta letra en cada columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$), ANOVA seguido de test LSD.

TC = Torta de colza; BC = Bagazo de cerveza; EFO = Estiércol fresco de ovino; 1,3-D = 1,3- dicloropropeno; Pic = cloropicrina.

y al mismo nivel ($p < 0,05$) que los desinfectantes químicos, tanto a 15 cm como a 30 cm. El tratamiento TC redujo la viabilidad en relación al testigo a 30 cm ($p < 0,05$), pero no a 15 cm (Tabla 3).

Efecto sobre el inóculo natural de *P. nicotianae* e incidencia de la enfermedad en el cultivo

En IK, los tratamientos TC, BC+EFO y los desinfectantes químicos en 2012 redujeron el porcentaje de plantas enfermas en los bioensayos desde el 100 % antes de los tratamientos hasta el 0 % después. En el testigo el porcentaje después fue 88,8 % (Tabla 4). Los tratamientos TC, BC+EFO y los desinfectantes redujeron la incidencia de la enfermedad al final del cultivo en el invernadero, en comparación al testigo (Tabla 4).

En IK (2013), los bioensayos con las muestras previas a la realización de los tratamientos in-

dicaron, para la biosolarización, diferencias significativas en el porcentaje de muestras en las que se infectaron plantas, lo que dificulta la interpretación de los resultados de los bioensayos con las muestras tomadas posteriormente, en los que tan solo con tratamientos químicos se obtuvieron porcentajes significativamente menores que en el testigo (Tabla 4). La reducción del porcentaje de muestras en las que se infectaron plantas solo fue significativa ($p < 0,05$, Test de Wilcoxon) en los tratamientos BC+EFO, Dazomet y el testigo. El porcentaje de plantas muertas al final del cultivo en el invernadero refleja el efecto de los tratamientos, mostrando que, tanto la biosolarización como la desinfección química, redujeron la incidencia respecto al testigo, siendo BC+EFO y 1.3 D+Pic similares y significativamente más efectivos que TC y Dazomet, los cuales tampoco difirieron entre sí, y mostraron niveles de mortalidad no aceptables agronómicamente.

Tabla 4. Porcentaje de plantas infectadas por *Phytophthora nicotianae* en los bioensayos con tierra del invernadero IK antes (Pre-BS) y después (Post-BS) de los tratamientos y porcentaje de plantas muertas por *P. nicotianae* en el cultivo de pimiento en invernadero (Cultivo) realizado después de los tratamientos en los ensayos 2012-2013 y 2013-2014.

Table 4. Number of pepper plants affected by *Phytophthora nicotianae* in trial using soil from IK greenhouse before (Pre-BS) and after (Post-Bs). Number of pepper plants affected during crops in greenhouses at 2012-2013 and 2013-2014 after treatments.

| Tratamientos | Invernadero IK 2012 septiembre | | | Invernadero IK 2013 octubre | | |
|--------------|--------------------------------|---------|---------|-----------------------------|---------|---------|
| | Bioensayos | | Cultivo | Bioensayos | | Cultivo |
| | Pre-BS | Post-BS | | Pre-BS | Post-BS | |
| TC | 100,0 ns | 0,0 b | 3,3 c | 33,3 b | 11,1 a | 24,7 b |
| BC+EFO | 100,0 | 0,0 b | 5,3 c | 66,6 a | 11,0 a | 13,3 c |
| 1,3-D+Pic | 100,0 | 0,0 b | 18,5 b | 11,1 c | 0,0 b | 8,7 c |
| Dazomet | 100,0 | 0,0 b | 8,0 c | 66,6 a | 0,0 b | 22,7 b |
| Testigo | 100,0 | 88,8 a | 82,2 a | 55,5 a | 22,0 a | 66,4 a |

Los valores seguidos de distinta letra en cada columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$), ANOVA seguido de test LSD (cultivo) y test de Wilcoxon (bioensayos).

TC = Torta de colza; BC = Bagazo de cerveza; EFO = Estiércol fresco de ovino; 1,3-D = 1,3- dicloropropeno; Pic = cloropicrina.

En IMSP los tratamientos TC, BC+EFO y EFO fueron efectivos, reduciendo el porcentaje de plantas enfermas en los bioensayos desde el 100 % antes de los tratamientos (33 % en el caso de EFO) hasta el 0 % después, mientras que en el tratamiento de Solarización el porcentaje se redujo significativamente menos, solo al 33 % (Tabla 5). La incidencia de la enfermedad al final del cultivo en el invernadero fue nula en los suelos biosolarizados y no difirió significativamente de la solarización.

En IAT, los bioensayos previos a la realización de los tratamientos indicaron diferencias significativas, lo que dificulta la interpretación de los resultados del ensayo. Los tratamientos BC+EFO y EFO no redujeron significativamente el porcentaje de plantas infectadas en los bioensayos y las diferencias entre los tratamientos después de la desinfección fueron similares a las encontradas en las muestras to-

madadas antes de la desinfección. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre tratamientos en el porcentaje de plantas muertas al final del cultivo en el invernadero (Tabla 5).

Incidencia de *Meloidogyne incognita* en el cultivo

En IK (2012), los tratamientos TC y BC+EFO redujeron el índice de agallas y el porcentaje de plantas infestadas con respecto al testigo, con una efectividad similar al Dazomet y mayor que 1,3-D+Pic (Tabla 6). En el ensayo iniciado en octubre de 2013, tanto los índices de agallas como el porcentaje de plantas infestadas fueron, en general, más elevados que en los del ensayo de 2012. Los índices de agallas en TC, en BC+EFO y en 1,3-D+Pic fueron menores que en el testigo, pero solo en BC+EFO el porcentaje de plantas infestadas fue menor que en el testigo no desinfectado (Tabla 6).

Tabla 5. Porcentaje de plantas infectadas por *Phytophthora nicotianae* en los bioensayos con tierra de los invernaderos IMSP (agosto 2012) e IAT (septiembre 2013) antes (Pre-BS) y después (Post-BS) de los tratamientos y porcentaje de plantas muertas por *P. nicotianae* en el cultivo de pimiento en invernadero (Cultivo) realizado después de los tratamientos.

Table 5. Number of pepper plants affected by *Phytophthora nicotianae* in trial using soil from greenhouses IMSP (August 2012) and IAT (September 2013) before (Pre-BS) and after (Post-BS) treatments. Number of pepper plants affected in greenhouses during crops.

| Tratamientos | Invernadero IMSP agosto | | | Invernadero IAT septiembre | | |
|--------------|-------------------------|---------|---------|----------------------------|---------|---------|
| | Bioensayos | | Cultivo | Bioensayos | | Cultivo |
| | Pre-BS | Post-BS | | Pre-BS | Post-BS | |
| TC | 100,0 a | 0,0 b | 0,0 ns | 0,0 a | 0,0 a | 2,5 ns |
| BC+EFO | 100,0 a | 0,0 b | 0,0 | 22,2 b | 22,2 b | 0,9 |
| EFO | 33,0 b | 0,0 b | 0,0 | 55,4 c | 44,4 c | 4,4 |
| Solarización | 100,0 a | 33,0 a | 2,2 | – | – | – |

Los valores seguidos de distinta letra en cada columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$), ANOVA seguido de test LSD (cultivo) y test de Wilcoxon (bioensayos).

TC = Torta de colza; BC = Bagazo de cerveza; EFO = Estiércol fresco de ovino.

En IMSP, los índices de agallas y los porcentajes de plantas infestadas fueron 0 en los tres tratamientos de biosolarización y muy bajos en el tratamiento solarizado (Tabla 6). En IAT, TC y BC+EFO redujeron significativamente el índice de agallas en relación EFO, pero solo TC redujo el porcentaje de plantas infestadas (Tabla 6).

Producciones comerciales

En IK (2012), la producción comercial en TC y BC+EFO fue similar a la de los desinfectantes químicos (Tabla 7). Al año siguiente, las producciones en TC y BC+EFO fueron similares a las del Dazomet e inferiores ($p < 0,05$) a las del tratamiento con 1,3-D+Pic. La biosolarización en agosto mejoró significativamente la producción en el invernadero ecológico IMSP en relación a la solarización sin enmienda orgánica. En IAT, la producción en TC y BC+EFO fue mayor que en EFO (Tabla 7).

Discusión

En el invernadero ecológico IMSP, la aplicación de la biosolarización en verano con TC y BC+EFO, o con solo EFO, mejoró la efectividad en el control de patógenos (*Phytophthora* spp. y *M. incognita*) con respecto a la solarización y se obtuvo un incremento de la producción. Coelho et al. (2000) comprobaron que el inóculo de *P. nicotianae* puede sobrevivir durante largo tiempo después de haber estado expuesto a 35 °C durante 480 h, umbral que se sobrepasó en todos los tratamientos de biosolarización a las dos profundidades. Wang y McSorely (2008) determinaron que el tiempo de exposición continua a 40 °C necesario para matar el 100 % de los huevos y de los juveniles J2 de *M. incognita* es de 46 h y 33 h respectivamente. Este umbral mínimo de tiempo acumulado fue superado en la biosolarización de IMSP a las dos profundidades (salvo TC a 30 cm). Etxe-

Tabla 6. Incidencia de *Meloidogyne incognita* [índice de agallas y % plantas infestadas (% PI)].
 Table 6. *Meloidogyne incognita* incidence [gall index and % infested plant (% PI)].

| Tratamientos | Invernadero IK 2012 | | Invernadero IK 2013 | | Invernadero IMSP | | Invernadero IAT | |
|--------------|---------------------|---------|---------------------|---------|------------------|-------|-----------------|---------|
| | Índice agallas | % PI | Índice agallas | % PI | Índice agallas | % PI | Índice agallas | % PI |
| TC | 1,4 c | 44,4 b | 3,7 b | 80,0 ab | 0,0 ns | 0,0 a | 1,3 c | 41,8 b |
| BC+EFO | 1,0 c | 38,9 b | 2,7 b | 73,3 b | 0,0 | 0,0 a | 2,9 b | 100,0 a |
| EFO | - | - | - | - | 0,0 | 0,0 a | 5,5 a | 100,0 a |
| Solarización | - | - | - | - | 0,1 | 6,0 a | - | - |
| 1,3-D+Pic | 3,6 b | 86,4 a | 2,7 b | 86,7 ab | - | - | - | - |
| Dazomet | 0,7 c | 33,3 b | 4,0 ab | 100,0 a | - | - | - | - |
| Testigo | 5,7 a | 100,0 a | 5,0 a | 100,0 a | - | - | - | - |

Los valores seguidos de distinta letra en cada columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$), ANOVA seguido de test LSD. TC = Torta de colza; BC = Bagazo de cerveza; EFO = Estiércol fresco de ovino; 1,3-D = 1,3- dieldropropeno; Pic = cloropicrina.

berria et al. (2011) determinaron que se precisan 199 h acumuladas con temperatura superior a 40 °C para obtener una reducción total de la viabilidad de las oosporas de *P. capsici* en suelos humedecidos. En el invernadero IMSP, el tiempo acumulado con temperatura superior a 40 °C a 30 cm no superó las 64 h en ninguno de los tratamientos y, sin embargo, la viabilidad de las oosporas fue similar a la observada a 15 cm, donde sí se superó el umbral de 199 h. Los efectos derivados de la descomposición de las enmiendas (producción de sustancias tóxicas, anaerobiosis, cambios en la microbiota del suelo, etc.) pueden complementar los de la exposición a temperaturas subletales, como indican Núñez-Zofío et al. (2011) en ensayos realizados en invernadero y Serrano-Pérez et al. (2017a) en ensayos al aire libre.

En las biosolarizaciones de la primera quincena de septiembre (invernadero IAT) el número de horas con temperatura del suelo superior a 40 °C, fue muy inferior al umbral de 199 h (Etxeberria et al., 2011), pero tuvo efecto significativo en la viabilidad de las oosporas de *P. capsici*, lo que corrobora la implicación de las enmiendas en el proceso. Sin embargo, en IAT los resultados de la incidencia de *P. nicotianae* en los bioensayos son difícilmente interpretables debido a la distribución irregular del patógeno en el suelo. En ensayos de solarización tampoco se encontró correspondencia entre el inóculo detectado después de la desinfección y la incidencia de la enfermedad (Polizzi et al., 1994). El efecto sobre *M. incognita* tampoco fue tan claro como en la biosolarización de verano y, aunque el índice de agallas en los tratamientos con los subproductos fue menor que en el que solo tenía EFO, tan solo el tratamiento con TC redujo significativamente el porcentaje de plantas infestadas.

En IK, tanto en septiembre del primer año, como en octubre del segundo, las temperaturas del suelo fueron más bajas que en el in-

Tabla 7. Producción comercial (Kg/m²).
Table 7. Marketable yield (Kg/m²).

| Tratamientos | IK (2012-2013) | IK (2013-2014) | IMSP | IAT |
|--------------|----------------|----------------|-------|--------|
| TC | 13,7 a | 8,3 b | 6,3 a | 13,1 a |
| BC+EFO | 12,9 a | 8,9 b | 7,1 a | 11,7 a |
| EFO | – | – | 7,1 a | 8,2 b |
| Solarizado | – | – | 5,3 b | – |
| 1,3-D+Pic | 14,2 a | 12,1 a | – | – |
| Dazomet | 13,2 a | 8,9 b | – | – |
| Testigo | 4,0 b | 5,5 c | – | – |

Los valores seguidos de distinta letra en cada columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$), ANOVA seguido de test LSD.

TC = Torta de colza; BC = Bagazo de cerveza; EFO = estiércol fresco de ovino; 1,3-D = 1,3-dicloropropeno; Pic = cloropicrina.

vernadero IAT. A pesar de ello, también se redujo la viabilidad de las oosporas de *P. capsici* los dos años y a las dos profundidades en comparación al testigo. Los resultados de los bioensayos del primer año en IK sugieren una inactivación total del inóculo de *P. nicotianae*, tanto con las biosolarizaciones como con los tratamientos químicos. Sin embargo, en el cultivo de pimiento posterior hubo incidencia de la enfermedad en todos los tratamientos. Coelho et al. (2000) estimaron un nivel de inóculo de 1 ufc/g de suelo como umbral para que se produzca la infección por *P. nicotianae* en plantas indicadoras de tomate. Si se extrapolara este umbral a pimiento, se podría inferir que la biosolarización con los subproductos reduce la densidad del inóculo de *P. nicotianae* a niveles inferiores al umbral de infección, a pesar de que la temperatura del suelo no alcanzó los 40 °C a lo largo del proceso. Las incidencias más bajas en el cultivo correspondieron a las biosolarizaciones (3,3 % con TC y 5,3 % con BC+EFO), consiguiendo un control más eficaz que el 1,3-D+Pic y similar al del Dazomet.

La reiteración de los tratamientos en octubre del segundo año influyó en la distribución de los patógenos, que era homogénea en el primer año, dificultando la interpretación de los resultados. Los bioensayos de antes y después de las biosolarizaciones muestran una reducción significativa de la incidencia en BC+EFO, en dazomet y en el testigo. La pérdida de infectividad del inóculo en el testigo podría estar asociada a la disminución del contenido de humedad en combinación con la temperatura (Bowers et al., 1990). La incidencia de la enfermedad en el cultivo fue, en general (1,3-D+Pic fue la única excepción), más elevada que en el cultivo del año anterior.

A pesar de que en el invernadero IK no se alcanzaron temperaturas superiores a 40 °C, la biosolarización redujo el índice de agallas de *Meloidogyne* respecto al testigo, tanto el primer año como el segundo, con índices de agallas similares a los de los tratamientos químicos. Se pone de manifiesto que el efecto de las enmiendas puede contrarrestar el déficit de temperatura. El efecto de la biosolariza-

ción en el porcentaje de plantas infestadas también fue similar al de los tratamientos químicos. La reiteración de la aplicación en el mismo suelo de la biosolarización con las dos enmiendas, no mejoró el control de *M. incognita*. En biosolarizaciones en octubre con pellets de *Brassica carinata* L. (solos o combinados con EFO) en invernaderos del Campo de Cartagena, Guerrero et al. (2013) tampoco encontraron mejoras en el control del *M. incognita* con la reiteración (3 años) de la biosolarización.

La solarización con la aplicación de enmiendas orgánicas (biosolarización) mejora la eficacia de la solarización como método de control de patógenos (Gamliel y Stapleton, 1997). El efecto de los compuestos liberados en la descomposición de la materia orgánica complementa el efecto de las temperaturas elevadas cuando la biosolarización se realiza en agosto (invernadero IMSP) y compensa el déficit térmico cuando la biosolarización se realiza en septiembre o en octubre (invernaderos IAT e IK). En los procesos de biosolarización o biodesinfección, se suman los efectos debidos a la anaerobiosis, a la acumulación de compuestos tóxicos liberados durante la fermentación anaeróbica y al incremento de la capacidad supresiva del suelo por los cambios microbiológicos producidos (Everts et al., 2006; Bonanomi et al., 2007; Arriaga et al., 2011). Serrano-Pérez et al. (2017a) mostraron que el déficit térmico de las biodesinfecciones en primavera al aire libre en Extremadura puede ser compensado con la incorporación de diferentes subproductos (salvado de arroz, bagazo de cerveza, orujo de vid, torta de colza o pellets de *B. carinata*) si se ajustan las dosis de incorporación a 4 mg de carbono/g de suelo, resultando eficaces para reducir la infectividad del inóculo de *P. nicotianae*.

Las dos enmiendas empleadas eran ricas en nitrógeno, que se libera en forma amoniacal durante el proceso de descomposición y cuyos efectos sobre los patógenos, han sido pue-

tos de manifiesto (Everts et al., 2006; Gamliel y Stapleton, 1997; Rodríguez-Kabana, 1986). La biosolarización con enmiendas a base de pellets o restos de brasicas en épocas de baja radiación solar y bajas temperaturas ambientales se han mostrado efectivas en el control de *M. incognita* en pimiento (Guerrero et al., 2013; Ros et al., 2016 y 2018). Sin embargo, cuando la biosolarización se inició en octubre con pellets de *B. carinata*, con vinaza de remolacha o con EFO solo, el control del nematodo fue reducido e inconsistente (Núñez-Zofío et al., 2013; Guerrero et al., 2013). Butler et al. (2012) encontraron una reducción significativa de *M. incognita* en los suelos solarizados con una mezcla de gallinaza y melaza, a pesar de que las temperaturas del suelo fueron bajas durante la desinfección.

En todos los invernaderos la biosolarización tuvo un efecto significativo en el incremento de la producción comercial respecto a los testigos no tratados. La mejora del control de *P. nicotianae* y de *M. incognita* es un factor determinante de este incremento, al disminuir las pérdidas causadas por estos patógenos.

En ensayos de desinfección realizados en invernaderos del Campo de Cartagena (Murcia), se ha podido comprobar que se producen pérdidas de cosecha significativas cuando el índice de agallas medio por *Meloidogyne* al final del cultivo de pimiento es próximo o superior a 5 (Guerrero et al., 2013; Ros et al., 2018). Índices de agallas similares se observaron en los testigos del invernadero IK y en la biosolarización con EFO en el invernadero IAT. En invernaderos infestados de *M. incognita* con diferentes antigüedades en el monocultivo de pimiento, los aumentos de cosecha biosolarizando con vinaza de remolacha y con la mezcla de vinaza de remolacha y EFO, en relación al testigo, fueron superiores al 150 %, tanto si la biosolarización se iniciaba en agosto como si se iniciaba en octubre, incluso en las parcelas donde el índice de agallas al final del cultivo era 5 o mayor de 5 (Nú-

ñez-Zofío et al., 2013). Aumentos del 120 % y 130 % se encontraron en invernaderos de las mismas características cuando se utilizaron pellets de *B. carinata* y la mezcla de pellets de *B. carinata* y EFO en agosto y octubre (Guerrero et al., 2013) o EFO+gallinaza en agosto, de forma reiterada (Ros et al., 2008). Aumentos de la calidad y cantidad de cosecha encontraron Hansen y Keinath (2013) biofumigando con brasicas y cubriendo con plástico virtualmente impermeable (VIF).

La "fatiga del suelo" es uno de los factores limitantes de la producción en el Campo de Cartagena (Murcia), que se muestra específica para el cultivo de pimiento por tratarse de un monocultivo prolongado durante muchos años (Guerrero et al., 2014). La fatiga sería la componente principal para explicar la pérdida de cosecha en las parcelas solarizadas del invernadero IMSP en relación a las biosolarizadas. La biosolarización, como la desinfección química, reduce el efecto de la fatiga del suelo, al eliminar una parte de la microbiota fúngica con efectos subletales o antagonistas por competencia con la planta (Martínez et al., 2011; Guerrero et al., 2014). En el caso de los pellets de colza, la acción fungicida de los derivados de los glucosinatos (alil y metil isotiocianatos) ocasiona una reducción de la flora fúngica y en la mitigación de los efectos de la fatiga del suelo y en la modificación de la microbiota (Martínez et al., 2011) estaría implicada en procesos de supresividad.

En varios ensayos de biosolarización en invernaderos de pimiento en zonas de climas templados y cálidos, utilizando diferentes enmiendas orgánicas, se han encontrado aumentos de los nutrientes, de la actividad enzimática y de la actividad biológica (Ros et al., 2008; Núñez-Zofío et al., 2011 y 2013), lo que redundaría en la mejora de la nutrición y la salud de las plantas, repercutiendo en su desarrollo y en la cosecha.

Se ha observado que la biosolarización con pellets de *B. carinata* o estiércol fresco de ovino reduce la densidad aparente del suelo en los 10-15 cm de profundidad y aumenta la velocidad de infiltración del agua (Núñez-Zofío et al., 2011). La reiteración de la biosolarización mejora las características físicas de los suelos pesados del Campo de Cartagena (Murcia) y dificulta la dispersión de los patógenos, particularmente de *Phytophthora*.

Conclusiones

La biosolarización con torta de colza o con la mezcla de bagazo de cerveza y estiércol fresco de ovino proporciona aceptables niveles de control de los patógenos, palió los efectos de la fatiga del suelo y mejora las cosechas. Los efectos trascienden a la campaña siguiente, incluso cuando se aplica en septiembre u octubre, fechas compatibles con el ciclo habitual del cultivo.

En conclusión, los dos subproductos agroindustriales ensayados (la torta de colza y el bagazo de cerveza mezclado con estiércol fresco de ovino) pueden ser utilizados como fuentes de carbono para la biosolarización, lo que permitiría extender la implantación de esta forma de manejo del suelo en una mayor superficie de invernaderos de pimiento en el Campo de Cartagena (Murcia), donde el uso de los estiércoles de origen animal está limitado por normativas locales, además de ser escasos en la comarca e insuficientes para cubrir la demanda.

Agradecimientos

El trabajo fue financiado por el proyecto INIA RTA2011-0005-C03-01 participado con fondos europeos FEDER.

Referencias bibliográficas

- Arriaga H, Núñez-Zofío M, Larregla S, Merino P (2011). Gaseous emissions from soil biodisinfestation by animal manure on a greenhouse pepper crop. *Crop Protection* 30: 412-419. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.12.012>.
- Blaya J, Lacasa CM, Lacasa A, Martínez V, Santísima-Trimidad AB, Pascual JA, Ros M (2014). Characterization of *Phytophthora nicotianae* isolates in south-east Spain and their detection and quantification through a real-time Taq-Man PCR. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(6): 1243-1251. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6813>.
- Blok WJ, Lamers JG, Termorshuizen AJ, Bollen GJ (2000). Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90: 253-259. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.3.253>.
- Bonanomi G, Antignani V, Pane C, Scala F (2007). Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. *Journal Plant Pathology* 89: 311-324.
- Bowers JH, Papavizas GC, Johnston SA (1990). Effect of soil temperature and soil-water matric potential on the survival of *Phytophthora capsici* in natural soil. *Plant Disease* 74: 771-777. <https://doi.org/10.1094/PD-74-0771>.
- Bridge J, Page SLJ (1980). Estimation of root-knot nematode infestation levels in roots using a rating chart. *Tropical Pest Management* 26: 296-298. <https://doi.org/10.1080/09670878009414416>.
- Butler DM, Kokalis-Burelle N, Muramoto J, Shenan C, McCollum TG, Roskopf EA (2012). Impact of anaerobic soil disinfestation combined with soil solarization on plant-parasitic nematodes and introduced inoculum of soilborne plant pathogens in raised-bed vegetable production. *Crop Protection* 39: 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.03.019>.
- Coelho L, Mitchell DJ, Chellemi DO (2000). Thermal inactivation of *Phytophthora nicotianae*. *Phytopathology* 90: 1089-1097. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.10.1089>.
- Etxeberria A, Mendarte S, Larregla S (2011). Thermal inactivation of *Phytophthora capsici* oospores. *Revista Iberoamericana de Micología* 28(2): 83-90 <https://doi.org/10.1016/j.riam.2011.01.004>.
- Everts KL, Sardanelli S, Kratochvil RJ, Armentrout DK, Gallagher LE (2006). Root-knot and root-lesion nematode suppression by cover crops, poultry litter, and poultry litter compost. *Plant Disease* 90: 487-492. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0487>.
- Gamliel A, Stapleton JJ (1997). Improved soil disinfestation by biotoxic volatile compounds generated from solarized, organic amended soil. *Acta Horticulturae* 382: 129-137. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.382.13>.
- Gandariasbeitia M, Ojinaga M, Orbegozo E, Ortiz-Barredo A, Núñez-Zofío M, Mendarte S, Larregla S (2019). Winter biodisinfestation with Brassica green manure is a promising management strategy for *Phytophthora capsici* control of protected pepper crops in humid temperate climate regions of northern Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research* 17(1): e1005. <https://doi.org/10.5424/sjar/2019171-13808>.
- Guerrero MM, Ros C, Guirao P, Martínez MA, Martínez MC, Barceló N, Bello A, Lacasa A, López JA (2005). Biofumigation plus solarisation efficacy for soil disinfestation in sweet pepper greenhouses in the Southeast of Spain. *Acta Horticulturae* 698: 293-298. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.698.39>.
- Guerrero MM, Ros C, Lacasa CM, Martínez V, Lacasa A, Fernández P, Martínez MA, Núñez-Zofío M, Larregla S, Díez-Rojo MA, Bello A (2010). Effect of biosolarization using pellets of *Brassica carinata* on soil-borne pathogens in protected pepper crops. *Acta Horticulturae* 883: 337-344. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.883.42>.
- Guerrero MM, Lacasa CM, Hernández A, Martínez V, Lacasa A (2013). Evaluation of repeated biodisinfestation using *Brassica carinata* pellets to control *Meloidogyne incognita* in protected pepper crops. *Spanish Journal of Agriculture Research* 11(2): 485-493. <https://doi.org/10.5424/sjar/2013112-3275>.

- Guerrero MM, Guirao P, Martínez MC, Tello J, Lacasa A (2014). Soil fatigue and its specificity towards pepper plants in greenhouses. Spanish Journal of Agriculture Research 12(3): 644-652. <https://doi.org/10.5424/sjar/2014123-5701>.
- Hansen ZR, Keinath AP (2013). Increased pepper yields following incorporation of biofumigation cover crops and the effects on soilborne pathogen populations and pepper diseases. Applied Soil Ecology 63: 67-77. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.09.007>.
- Jeffers SN, Martin SB (1986). Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. Plant Disease 70: 1038-1043. <https://doi.org/10.1094/PD-70-1038>.
- Jiang J, Erwin DC (1990). Morphology, plasmolysis and tetrazolium bromide stain as criteria for determining viability of *Phytophthora* oospores. Mycologia 82(1): 107-113. <https://doi.org/10.2307/3759969>.
- Katase M, Kubo C, Ushio S, Ootsuka E, Takeuchi T, Mizukubo T (2009). Nematicidal activity of volatile fatty acids generated from wheat bran in reductive soil disinfestation. Nematological Research 39: 53-62. <https://doi.org/10.3725/jjn.39.53>.
- Kirkegaard JA (2014). From canola roots to curbing cancer. A fascinating journey into brassica's beneficial bioactives. 5th International Symposium of Biofumigation. Aspects of Applied Biology 126: 1-3.
- Lacasa CM, Guerrero MM, Ros C, Martínez V, Lacasa A, Fernández P, Núñez-Zofío M, Larregla S, Martínez MA, Díez-Rojo MA, Bello A (2010). Efficacy of biosolarization with sugar beet vinasas for soil disinfestation in pepper greenhouses. Acta Horticulturae 883: 345-352. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.883.43>.
- Lacasa CM, Martínez V, Martínez MC, Lacasa A, Tello J (2013). *Phytophthora* en los invernaderos de pimiento del Campo de Cartagena (Murcia). Agroecología 12: 18-19.
- Martínez MA, Martínez MC, Bielza P, Tello J, Lacasa A (2011). Effect of biofumigation with manure amendments and repeated biosolarization on *Fusarium* density in pepper crops. Journal of Industry Microbiology and Biotechnology 38: 3-11. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0826-2>.
- 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: 1563-1572. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.08.020>.
- Núñez-Zofío M, Larregla S, Garbisu C (2012). Repeated biodisinfection controls the incidence of *Phytophthora* root and crown rot of pepper while improving soil quality. Spanish Journal of Agricultural Research 10(3): 794-805. <https://doi.org/10.5424/sjar/2012103-571-11>.
- Núñez-Zofío M, Larregla S, Garbisu C, Guerrero MM, Lacasa CM, Lacasa A (2013). Application of sugar beet vinasse followed by solarization reduces the incidence of *Meloidogyne incognita* in pepper crops while improving soil quality. Phytoparasitica 41: 181-191. <https://doi.org/10.1007/s12600-012-0277-6>.
- Polizzi G, Agosteo GE, Cartia G (1994). Soil solarization for the control of *Phytophthora capsici* on pepper. Acta Horticulturae 366: 331-335. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.366.41>.
- Rodríguez-Kábana R (1986). Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. The Journal of Nematology 18: 129-135.
- Ros M, García C, Hernández MT, Lacasa A, Fernández P, Pascual JA (2008). Effects of biosolarization as methyl bromide alternative for *Meloidogyne incognita* control on quality of soil under pepper. Biology and Fertility of Soils 45: 37-44. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0307-1>.
- Ros C, Sánchez F, Martínez V, Lacasa CM, Hernández A, Torres J, Guerrero MM, Lacasa A (2016). El cultivo de brasicas para biosolarización reduce las poblaciones de *Meloidogyne incognita* en los invernaderos de pimiento del Sudeste de España. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 112(2): 109-126. <https://doi.org/10.12706/itea.2016.008>.

- Ros C, Martínez V, Sánchez F, López-Marín J, Lacasa CM, Guerrero MM, Lacasa A (2018). Combination of biosolarization and grafting to control *Meloidogyne incognita* in greenhouse pepper crops. *Crop Protection* 113: 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.07.007>.
- Roskopf EN, Burelle N, Hong J, Butler DM, Noling JW, He Z, Booker B, Sances F (2014). Comparison of anaerobic soil disinfestation and drip-applied organic acids for raised-bed specialty crop production in Florida. *Acta Horticulturae* 1044: 221-228. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1044.26>.
- Santos M, Diáñez F, de Cara M, Tello JC (2008). Possibilities of the use of vinasses in the control of fungi phytopathogens. *Bioresource Technology* 99: 9040-9043. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.032>.
- Serrano-Pérez P, Roskopf E, De Santiago A, Rodríguez-Molina MC (2017a). Anaerobic soil disinfestation reduces survival and infectivity of *Phytophthora nicotianae* chlamydospores in pepper. *Scientia Horticulturae* 215: 38-48. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.12.003>.
- Serrano-Pérez P, Palo C, Rodríguez-Molina MC (2017b). Efficacy of *Brassica carinata* pellets to inhibit mycelial growth and chlamydospores germination of *Phytophthora nicotianae* at different temperature regimes. *Scientia Horticulturae* 216: 126-133. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.002>.
- Shennan C, Muramoto J, Lamers J, Mazzola M, Roskopf EN, Kokalis-Burelle N, Momma M, Butler DM, Kobara Y (2014). Anaerobic soil disinfestation for soil borne disease control in strawberry and vegetable systems: current knowledge and future directions. *Acta Horticulturae* 1044: 165-176. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1044.20>.
- Tejada M, González JL, García-Martínez AM, Parrado J (2008). Application of green manure and green manure composted with beet vinasse on soil restoration: effects on soil properties. *Bioresource Technology* 99: 4949-4957. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.026>.
- Tello J, Varés F, Lacasa A (1991). Análisis de muestras. En *Manual de Laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos*. (Ed. Andrés Yeves MF), pp. 39-72. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Grafoffset SL Press, Madrid, España.
- Wang KH, McSorley R (2008). Exposure time to lethal temperatures for *Meloidogyne incognita* suppression and its implication for soil solarization. *The Journal of Nematology* 40(1): 7-12.
- Yossen V, Zumelzu G, Gasoni L, Kobayashi K (2008). Effect of soil reductive sterilization on *Fusarium* wilt in greenhouse carnation in Córdoba, Argentina. *Australasian Plant Pathology* 37: 520-522. <https://doi.org/10.1071/AP08039>.

(Aceptado para publicación el 15 de julio de 2021)