

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y
DEL MEDIO NATURAL

Departamento de Ecosistemas Agroforestales



Viabilidad de la técnica de biofumigación con los cultivos de *Raphanus sativus*, *Sorghum spp* y *Sorghum sudanense* como método de desinfección del suelo.

Trabajo Fin de Máster: Ingeniería Agronómica

Alumno: Francisco Collado Poveda

Tutor: Rafael Laborda Cenjor

Curso Académico: 2017-2018

Valencia, Julio 2018

Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo conocer el efecto que tiene la técnica de biofumigación sobre el suelo.

Para ello se realiza un ensayo en una parcela de 800 m² situada en el municipio de Alcácer en la empresa SAIFRESC en el cual posteriormente a la biofumigación se siembran zanahorias. Dicho ensayo consta de dieciséis parcelas de 50 m² cada una, en las cuales se han sembrado tres cultivos diferentes, por un lado, se tienen cuatro parcelas con rábano (*Raphanus sativus*), cuatro con sorgo (*Sorghum spp*), cuatro con pasto del Sudán (*Sorghum sudanense*) y otras cuatro parcelas empleadas como testigo.

Temporalmente se recogen muestras de suelo de todas las parcelas para analizarlas en laboratorio y observar la presencia de nematodos y artrópodos, para ello se emplea el embudo de Baermann para la extracción de nematodos y la técnica del embudo de Berlese para la extracción de artrópodos, además se realizan tres conteos en campo de plantas arvenses con la ayuda de cinco aros de 56 cm de diámetro. Finalmente, se realiza una medida y pesaje de las zanahorias en el momento de la cosecha.

Además, en los meses de invierno y primavera se lleva a cabo pruebas de biofumigación con *Raphanus sativus* y *Brassica carinata* en diferentes parcelas.

El fin de este trabajo es conocer que efecto tiene la incorporación de material vegetal al suelo a nivel de artrópodos, nematodos y plantas arvenses. Además de comprobar si afecta a la cosecha del cultivo posterior en peso y tamaño, así como conocer si hay diferencias significativas entre los distintos cultivos empleados en la biofumigación.

Alumno: Francisco Collado Poveda

Tutor: Rafael Laborda Cenjor

Palabras clave: Biofumigación, *Raphanus sativus*, *Sorghum sudanense*, *Sorghum spp*, *Brassica carinata*, nematodos, Baermann, artrópodos, Berlese, malas hierbas.

Valencia, Julio 2018

SUMMARY

The objective of this academic project is to know the effect of the biofumigation technique of the soil.

For it, we make an essay in an 800 m² parcel situated in Alcacer in the SAIFRESC company. In this parcel after the biofumigation we sow carrots. We divide the parcel in sixteen parcels of 50 m². In every parcel we sow three different crops. In four parcels we sow *Raphanus sativus*, in other four *Sorghum* spp, other four with *Sorghum sudanense* and finally the last four parcels are used as a witness.

Temporaly we collect soil samples of all the parcels to analyze them in the laboratory and to observate the presence of nematodes and arthropods. For this observation we use the Baermann funnel and the Berlese funnel. Also, we make three counts in a field of weed plants with five rings of 56cm diameter. Finally, we measure and weigh the carrots at the moment of the harvest.

In the winter and printer months we do tests of biofumigation with *Raphanus sativus* and *brassica carinata* in different parcels.

The end of this academic project is to know the effect of the incorporation of plant material to the soil at the level of arthropods, nematodes and weeds. Also checking the effect in measure and weight on the harvest in the next crop. As well as knowing if there are differences between the different crops used in biofumigation.

Student: Francisco Collado Poveda

Teacher: Rafael Laborda Cenjor

Keywords: biofumigation, arthropods, nematodes, weeds

Valencia, July 2018

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	8
1.1. Desinfección de los suelos	8
1.2. La Biofumigación	10
1.2.1. Ventajas.....	11
1.2.2. Inconvenientes	11
1.2.3. La Biofumigación como control de nematodos, artrópodos y plantas arvenses en el suelo	12
1.2.4. Especies biocidas.....	14
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	15
3. MATERIAL Y MÉTODOS	16
3.1. Parcelas	16
3.2. Muestreo en campo, procesado de muestras y conservación	17
3.2.1. Aspiración de artrópodos.....	17
3.2.2. Extracción y conteo de nematodos.....	18
3.2.3. Extracción de artrópodos y conteo	18
3.2.4. Malas hierbas	19
3.2.5. Cuantificación de biomasa	20
3.3. Elección de especies.....	21
3.3.1. Crucíferas	21
3.3.2. Gramíneas	22
3.3. Ensayos.....	23
3.3.1. Ensayo número 1: Biofumigación verano Alcácer 2017.....	23
3.3.2. Ensayo número 2: Biofumigación invierno Alcácer 2018.....	26
3.3.3. Ensayo número 3: Biofumigación primavera Alboraiá 2018.....	28
3.3.4. Ensayo número 4: Biofumigación primavera Meliana 2018	30
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1. Biofumigación verano 2017. Alcácer.....	32
4.2. Biofumigación invierno 2018. Alcácer.....	35
4.3. Biofumigación primavera 2018. Alboraiá.....	38
4.4. Biofumigación primavera 2018. Meliana	41
5. CONCLUSIONES	45
6. BIBLIOGRAFÍA	46
ANEJO	48

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Calendario Biofumigación 2017-2018	16
Tabla 2. Características parcelas	16
Figura 1. Solarización	9
Figura 2. Etapas biofumigación	11
Figura 3. Aspirador	17
Figura 4. Embudo Baermann.....	18
Figura 5. Embudo Berlese	19
Figura 6. Conteo de malas hierbas.....	19
Figura 7. Conteo en invernadero	19
Figura 8. Contenido de biomasa (izquierda) y peso empleado (derecha).....	20
Figura 9. Proceso de secado de biomasa	20
Figura 10. <i>Raphanus sativus</i> (flor blanca) y <i>Brassica carinata</i> (flor amarilla).....	21
Figura 11. <i>Sorghum spp.</i>	22
Figura 12. <i>Sorghum sudanense</i>	22
Figura 13. Ubicación ensayo 1	23
Figura 14. Plano parcela ensayo 1	23
Figura 15. Riego a manta	24
Figura 16. Parcela antes de la biofumigación (izquierda) y durante (derecha)	24
Figura 17. Cultivo zanahoria y riego por goteo.....	25
Figura 18. Ubicación parcela ensayo 2.....	26
Figura 19. Parcela ensayo 2	26
Figura 20. Plano parcela ensayo 2	27
Figura 21. Ubicación parcela ensayo 3.....	28
Figura 22. Parcela ensayo 3	29
Figura 23. Plano parcela ensayo 3	29
Figura 24. Ubicación parcela ensayo 4.....	30
Figura 25. Parcela antes de la biofumigación (izquierda) y durante (derecha)	31
Figura 26. Plano parcela ensayo 4	31
Figura 27. Promedio de nematodos tras la biofumigación contenidos en 200 gramos de tierra según dosis de siembra y testigo. La barra vertical muestra el error estándar. * Diferencias significativas	32
Figura 28. Evolución de número de nematodos según cultivos en función del tiempo.....	32
Figura 29. Resultados conteo de malas hierbas en campo y en invernadero. Los resultados obtenidos en campo son el promedio de malas hierbas contenido en cada tesis en una superficie de 5 metros cuadrados por tesis. Los resultados en invernadero son el promedio de malas hierbas contenido en las macetas por cada tesis (4 macetas por tesis)	33
Figura 30. Tamaño y peso de la zanahoria tras la incorporación del material vegetal de los diferentes cultivos biocidas.....	34
Figura 31. Promedio de biomasa en gramos contenida en un metro cuadrado por cada dosis de siembra. * Diferencias significativas	35
Figura 32. Promedio de nematodos tras la biofumigación contenidos en 200 gramos de tierra según dosis de siembra y testigo. La barra vertical muestra el error estándar	36

Figura 33. Promedio de microartrópodos contenidos en 200 gramos de suelo para cada subparcela del ensayo.....	36
Figura 34. Artrópodos beneficiosos extraídos por aspiración. El proceso constó de 20 aspiraciones (una aspiración por planta) de 3 segundos de tiempo cada una, repitiendo este proceso en cada subparcela del ensayo.....	37
Figura 35. Artrópodos beneficiosos extraídos por la técnica del embudo de Berlese. Se depositaron por un lado 50 gramos de hojas de <i>Raphanus sativus</i> en un embudo y 50 gramos de hojas de <i>Brassica carinata</i> en otro, y por otro lado 25 gramos de flores de <i>Raphanus sativus</i> y otro de <i>Brassica carinata</i> , repitiendo esta acción para cada dosis.....	37
Figura 36. Promedio de biomasa en gramos contenida en un metro cuadrado en función de la dosis de siembra.....	38
Figura 37. Promedio de nematodos tras la biofumigación contenidos en 200 gramos de tierra según dosis de siembra y testigo. La barra vertical muestra el error estándar	38
Figura 38. Promedio de microartrópodos contenidos en 200 gramos de suelo para cada subparcela del ensayo.....	39
Figura 39. Artrópodos beneficiosos extraídos por aspiración. El proceso constó de 20 aspiraciones (una aspiración por planta) de 3 segundos de tiempo cada una, repitiendo este proceso en cada subparcela del ensayo.....	39
Figura 40. Artrópodos beneficiosos extraídos por la técnica del embudo de Berlese. Se depositaron por un lado 50 gramos de hojas de <i>Raphanus sativus</i> en un embudo y 50 gramos de hojas de <i>Brassica carinata</i> en otro, y por otro lado 25 gramos de flores de <i>Raphanus sativus</i> y otro de <i>Brassica carinata</i> , repitiendo esta acción para cada dosis.....	40
Figura 41. Promedio de biomasa en gramos contenida en un metro cuadrado en función de la dosis de siembra.....	41
Figura 42. Promedio de nematodos tras la biofumigación contenidos en 200 gramos de tierra según dosis de siembra y testigo. La barra vertical muestra el error estándar	42
Figura 43. Promedio de microartrópodos contenidos en 200 gramos para cada subparcela del ensayo de suelo en los periodos de pre-biofumigación y post-biofumigación	42
Figura 44. Artrópodos beneficiosos extraídos por aspiración. El proceso constó de 20 aspiraciones (una aspiración por planta) de 3 segundos de tiempo cada una, repitiendo este proceso en cada subparcela del ensayo.....	43

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Desinfección de los suelos

La desinfección de suelos es una intervención en los sistemas de cultivo siendo el principal objetivo la mejora de calidad de los productos obtenidos, gracias a la eliminación o reducción de la población de patógenos que habitan en el suelo como son insectos, nematodos, hongos, malas hierbas, bacterias y virus, los cuales afectan a la viabilidad de las especies vegetales, por esta razón, la desinfección en horticultura intensiva representa una práctica crucial para combatir no sólo los patógenos de las plantas sino también malas hierbas y plagas de artrópodos permitiendo mantener los altos niveles de productividad (Gullino,2000).

El suelo de los cultivos es un factor de gran importancia, por lo que es necesaria la optimización de su manejo, por lo cual se realizará una correcta desinfección del suelo, reduciendo el impacto ambiental de las prácticas agrícolas. Entre las diferentes técnicas empleadas para desinfectar los suelos están:

Desinfecciones físicas

Son las que utilizan el calor como elemento esterilizante.

Desinfecciones químicas

Basadas en la aplicación de diferentes productos químicos, consiguiendo la desinfección del suelo. Estos productos químicos suelen ser Bromuro de Metilo, Cloropicrina (ambos prohibidos actualmente) Dazomet, o metam sodio.

Desinfección con vapor de agua

Tiene una eficacia probada en la eliminación de la mayoría de los parásitos del terreno agrícola. Suele aplicarse a una profundidad variable, en función del sistema que se utilice, aunque a profundidades elevadas puede ocasionar la destrucción de los nutrientes del suelo. La efectividad de este método es superior en los terrenos secos, razón por la cual hay que evitar regar antes de la aplicación de la desinfección mediante vapor de agua. Entre los inconvenientes de este sistema suele estar su coste elevado.

Solarización

Este método de desinfección, se basa en acolchar con plástico el terreno agrícola en la época del año de mayor incidencia de los rayos solares y temperaturas más altas.

Estas elevadas temperaturas provocan modificaciones químicas, biológicas y físicas, que van a conseguir la reducción e incluso la desaparición de gran parte de los patógenos. En cuanto a la cantidad de agentes patógenos que este sistema puede eliminar, estará en función de muchos factores, como es el caso de la estructura del suelo, material y composición del plástico, etc.

La solarización consigue que se reduzcan las pérdidas de calor en la evaporación producida por las altas temperaturas, de forma que las gotas evaporadas se condensan en la parte interna del plástico de la cubierta. También disminuyen las pérdidas de calor que se originan a causa de la emisión infrarroja del terreno. Al final se obtiene la máxima eficiencia en la transmisión del calor.



Figura 1. Solarización

Biofumigación

Con esta técnica, se aplica una buena cantidad de materia orgánica al terreno agrícola, y de esta forma se utilizarán los gases que resulten de la descomposición de esta materia para eliminar agentes patógenos. Esta materia puede tener un origen animal (generalmente es estiércol) y también vegetal (restos de cultivos).

La técnica de la biofumigación puede realizarse en cualquier época del año, entre otras cosas porque no se necesitan temperaturas demasiado altas, aunque los procesos de degradación de la materia orgánica (lo que supone la base de esta modalidad de desinfección), son más rápidos a mayores temperaturas.

Biosolarización

Esta técnica combina las dos anteriores. Se basa en conseguir temperaturas mayores a la solarización tradicional, consiguiendo acumular un elevado porcentaje de gases bajo la protección de la cubierta.

1.2. La Biofumigación

Técnica de desinfección que consiste en aplicar una cantidad abundante de materia orgánica al suelo y utilizar los gases resultantes de la descomposición de la materia orgánica para el control de los patógenos de suelo. Puede ser de origen animal o vegetal. El empleo de esta técnica contribuye a resolver los problemas ambientales creados por los residuos de la agroindustria (Bello *et al.*,1997).

Durante la biodescomposición de la materia orgánica se liberan gran cantidad de productos químicos que ayudan al control de los patógenos del suelo. Entre estos compuestos se encuentran amoníaco, nitratos, sulfuro de hidrógeno, ácidos orgánicos, un gran número de otras sustancias volátiles, así como enzimas (peroxidasas, quitinas) y fenoles (Barres,2006; Bello *et al.*,1997).

En cuanto a los gases liberados, cuando el estiércol se descompone, libera amoníaco (cuanto más fresco es el estiércol, mayor es la emisión amoniaca) y si la materia orgánica es de origen vegetal, la liberación es de isotiocianatos (si los restos son de crucífera), amonio y fenoles.

La biofumigación puede llevarse a cabo en cualquier época del año ya que no necesita alcanzar temperaturas demasiado elevadas. Pero, hay que tener en cuenta que el proceso de degradación de la materia orgánica es más rápido cuando las temperaturas son mayores y viceversa.

Etapas del proceso de biofumigación

- Etapa 1: La población microbiana es máxima, por lo que la concentración de oxígeno en el suelo disminuye considerablemente. Por otro lado también, la liberación de sustancias volátiles es máxima durante esta fase inicial.
- Etapa 2: La población de microorganismos en el suelo se reduce en general, viéndose favorecidas las poblaciones de microorganismos saprófitos (poder fungistático) debido a la incorporación de la materia orgánica.

- Etapa 3: La poblaciones de microorganismos se estabilizan siendo considerablemente mayores las correspondientes a microorganismos saprófitos y antagonistas de patógenos. (Igelmo, 2010)

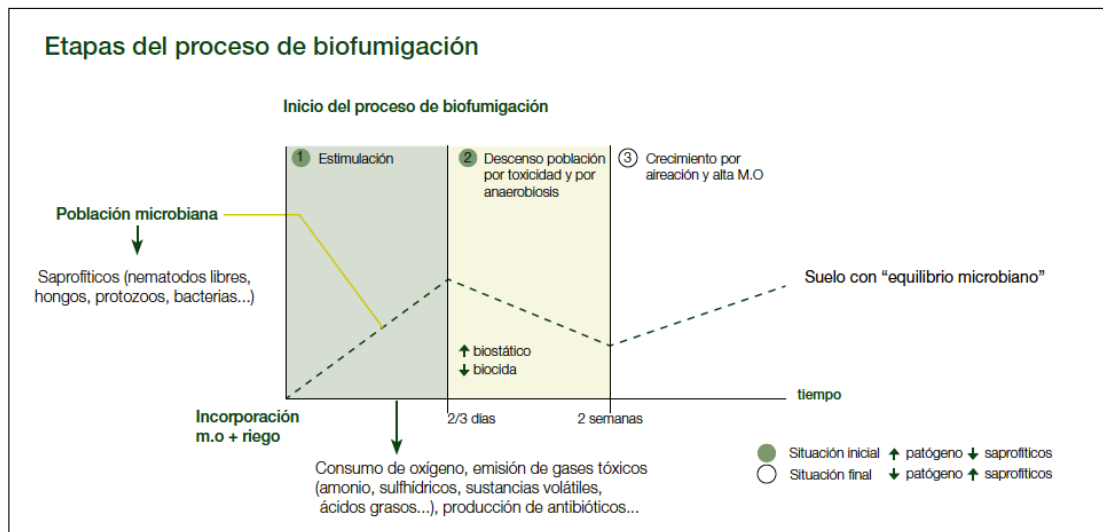


Figura 2. Etapas biofumigación

1.2.1. Ventajas

Como ventajas de esta técnica destaca el bajo impacto sobre el medio ambiente y los consumidores, sin tener límites en su utilización con respecto a los tratamientos tanto en producción integrada como en agricultura ecológica. Debido a que el material vegetal que se utiliza proviene de los subproductos agrícolas, los costes de comercialización son escasos. El hecho de poder utilizar los residuos agrícolas o agroindustriales como materia prima para esta técnica supone una reducción en cuanto a la contaminación ambiental a parte de una fuente de ingresos adicional para las empresas (Bello, 1998).

1.2.2. Inconvenientes

Las mayores desventajas de esta alternativa son la oportunidad de disponer de material vegetal y heterogeneidad de su eficacia en el suelo con baja actividad biológica que facilite la descomposición del material (Carrasco y Riquelme, 2006). De entre los diferentes productos liberados a partir de la materia orgánica, la cantidad de amoníaco variará con los niveles de nitrógeno del sustrato orgánico, siendo también importante el contenido en carbono al depender de éste la metabolización de nitrógeno, de modo que, en ausencia de fuentes de carbono, el amoníaco y los nitratos pueden acumularse y causar fitotoxicidad.

1.2.3. La Biofumigación como control de nematodos, artrópodos y plantas arvenses en el suelo

Biofumigación y control de nematodos (Bello *et al.*, 2000).

La mayoría de las publicaciones existentes sobre la aplicación de la biofumigación propiamente dicha en el control de nematodos fitoparásitos corresponden al equipo de Nematología Agraria (Bello *et al.*, 2000). Por otra parte, existe gran número de excelentes trabajos sobre el empleo de enmiendas orgánicas, abonos verdes y residuos agroindustriales, especialmente en países como Egipto, India y Pakistán, así como de modo aislado en Latinoamérica.

En el Congreso de la Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos (ONTA), que tuvo lugar en San Juan de Puerto Rico en junio de 1999, aparecen por primera vez algunas comunicaciones, que pueden considerarse con enfoque científico, que entran dentro de los conceptos que se han planteado sobre biofumigación. Así Rodríguez-Kábana (1999) presenta un biofumigante, que controla *Meloidogyne incognita* y flora arvense; Bello *et al.*, (1999) aplican con eficacia la biofumigación en el control de *M. incognita* y *Rotylenchulus reniformis* en Guatemala; Arias *et al.*, (1999), al estudiar las alternativas al bromuro de metilo en una rotación pepino-acelga en invernaderos de la Comunidad de Madrid, afectada fundamentalmente por *M. incognita*, utilizan compost de champiñón (5 kg m), observando una disminución de las poblaciones del nematodo y un incremento de la producción en las parcelas con tratamiento de compost; Bello *et al.*, (1999) señalan la eficacia del empleo de la biofumigación en el control de nematodos en Guatemala y Uruguay.

Biofumigación y control de artrópodos (Bello *et al.*, 2000).

Matthiessen y Kirkegaard (1993) emplean el término **biofumigación** al tratar de sustituir el uso del metam sodio en el control de *Graphognathus spp.* de la patata en Australia, puesto que este producto tiene un amplio espectro de actividad no sólo sobre los organismos causantes de plagas y enfermedades sino también sobre muchos organismos beneficiosos. Este efecto negativo les hace dudar de la sustentabilidad del metam sodio a largo plazo. Por otro lado, indican que el metam sodio es muy caro y debe ser aplicado cuidadosa y correctamente. Estos autores señalan que su componente activo es el metil isotiocianato (ITC's), un compuesto volátil que se produce sintéticamente por la industria química, sin embargo, existen otras

fuentes naturales, no solo del metil isotiocianato, sino de otras formas de isotiocianatos (ITC's). Estas fuentes de ITC's se encuentran principalmente en diferentes especies y variedades de brásicas, entre ellas la col, coliflor, mostaza y nabo.

Los estudios realizados han demostrado que los ITC's producidos por las brásicas tienen efecto repelente sobre el "gusano de alambre", aumentado su eficacia cuando estos insectos están en fases tempranas de crecimiento, puesto que tienen menor tamaño y son más susceptibles a los tóxicos. Cuando los huevos del insecto *Graphognathus spp.* eclosionan, en el Este de Australia, después de las primeras lluvias de otoño, son muy pequeños (1 mm de longitud), en lugar de crecer y desarrollarse rápidamente, las larvas permanecen en el primer estadio durante muchas semanas debido a las bajas temperaturas del invierno. El crecimiento sólo aparece cuando aumenta la temperatura en primavera. Por todo ello las larvas de este insecto pueden ser controladas por biofumigación antes de plantar patatas. En otros casos, las brásicas pueden actuar como repelentes. El concepto de biofumigación ha estado más relacionado con los organismos patógenos de origen edáfico, siendo nueva esta idea de que puede controlar insectos. Elberson *et al.*, (1996), Borek *et al.*, (1997) y Noble y Sams (1999) encuentran que la biofumigación con concentraciones altas de *Brassica juncea* puede controlar larvas de diferentes especies de insectos, incorporando una biomasa de 4 y 8% de suelo.

Biofumigación y control de flora arvense (Bello *et al.*, 2000).

La aplicación de las técnicas de biofumigación en el control de la flora arvense no tienen el mismo desarrollo que en el de nematodos, hongos e insectos. Sin embargo, son numerosos los trabajos existentes con alelopatías y su interés en el control de la flora arvense, que hasta cierto punto tienen que ver con la biofumigación, pero, sobre todo, cuando se revisan los Weed Abstracts fundamentalmente en el apartado de técnicas culturales, se encuentran algunos trabajos sobre el uso de materia orgánica y abonos verdes, que nos permite afirmar que la biofumigación puede ser una alternativa en el control de la flora arvense.

Aponte *et al.*, (1992) en Venezuela estudian el control de malezas y enfermedades del tomate con la utilización de residuos de cosechas. Pandey (1994) encuentra en la India que los residuos de hoja de *Parthenium hysterophorus* inhiben el crecimiento de *Salvinia molesta*, señalando el interés del trabajo para comprender la dinámica de poblaciones de la flora arvense en los sistemas acuáticos naturales. Edwards *et al.*, (1994) estudian el efecto de residuos orgánicos no compostados, con una relación C: N = 30:1, que se modifica al añadirle gallinaza, en algodón en el Norte de Alabama (EE.UU.) encontrando que la utilización de estos residuos

con cubiertas de paja de trigo reduce la flora arvense durante el invierno, no habiendo diferencia entre los tratamientos químicos o no químicos; señalando que los residuos con celulosa tienen gran valor potencial para el manejo del suelo en agricultura.

1.2.4. Especies biocidas

Crucíferas.

Las crucíferas contienen importantes cantidades de glucosinolatos que al ser incorporados al suelo e hidrolizarse, dan lugar a los isotiocianatos, que son compuestos tóxicos para nematodos, malas hierbas, insectos y patógenos del suelo, la biofumigación con especies de esta familia con elevada biomasa y por tanto elevado contenido de glucosinolatos, puede constituir una desinfección del suelo de bajo coste, debido a las escasas necesidades de cultivo y al coste cero de transporte del material biofumigante (Saavedra *et al.*, 2013).

Gramíneas.

Los residuos de la mayoría de las gramíneas tienen alto contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina, que al descomponerse producen varios subproductos, entre ellos azúcares, con predominio de galactosamina, glucosamina, ácido murámico, manosamina y otros, así como aminoácidos, fenoles y ácidos orgánicos volátiles y no volátiles. Estas sustancias son necesarias para la vida microbiana en el suelo, y el desarrollo de microorganismos benéficos que a su vez liberan sustancias y compuestos útiles para las plantas cultivadas, las cuales contrarrestan el crecimiento de ciertos microorganismos dañinos presentes en el medio. En el proceso de degradación de la materia orgánica actúan poblaciones de microorganismos que tienen efecto biostático y biocida sobre microorganismos patógenos en el suelo.

En condiciones anaerobias se producen ácidos acético, fórmico, láctico, butírico y succínico, entre otros. Además, se ha reportado la liberación de cianuro durante la degradación de residuos de sorgo, el cual elimina nematodos. (Godoy *et al.*, 2013).

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La justificación del presente trabajo busca analizar los efectos de la biofumigación sobre el suelo como alternativa a la desinfección con productos fitosanitarios como por ejemplo el bromuro de metilo, que ha sido el compuesto químico más utilizado debido a su gran eficacia como gas fumigante (actualmente está prohibido su uso) o el metam sodio.

Como objetivos principales del trabajo está la cuantificación previa y posterior a la biofumigación de la biodiversidad de especies de artrópodos, nematodos y malas hierbas, así como estudiar los diferentes comportamientos de los distintos cultivos en el suelo frente a producción de biomasa, efecto sobre el cultivo posterior y efecto sobre el suelo a nivel biológico.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Parcelas

Los ensayos se realizaron durante los años 2017 y 2018 en cuatro parcelas diferentes, dos ubicadas en la empresa SAIFRESC, en el término municipal de Alcácer, otra en la Alquería Vicente Martí, situada en el término municipal de Alboraiá, (dedicándose ambas fincas a la producción ecológica de cultivos hortícolas) y por último una parcela situada en el término municipal de Meliana. Las fechas concretas donde se realizaron los ensayos y todo lo acontecido en ellos se especifica a continuación en la Tabla 1 y Tabla 2:

Tabla 1. Calendario Biofumigación 2017-2018

biofumigación 2017	jul	ago	sep	oct	nov	dic	ene	feb	mar	abr
Finca Alcacer										
biofumigación	12		16							
conteo nematodos										
riegos										
cultivo zanahoria										
conteo malas hierbas										
Biofumigación 2018	ene	feb	mar	abr	may	jun	jul	ago	sep	oct
Finca Alboraiá										
biofumigación				2		19				
conteos										
riegos										
secado biomasa										
Finca Alcacer										
biofumigación			6			25				
conteos										
riegos										
secado biomasa										
Finca Meliana										
biofumigación					15		14			
conteos										
riegos										
secado biomasa										

Tabla 2. Características parcelas

Ensayo	S.total (m ²)	Cultivos	Variiedad	Parcela cultivo	Nivel dosis	S. cultivo (m ²)	Dosis (kg/Ha)	Dosis parcela(g)	Siembra
1	800	<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	2,3,12,15	Fabricante	200	30	600	Voleo
		<i>Sorghum spp</i>	SUSU	4,7,11,16	Fabricante	200	50	1000	Voleo
		<i>Sorghum sudanense</i>	Pipper	1,6,10,13	Fabricante	200	50	1000	Voleo
2	2385	<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	1	Alta	954	15	1431	Voleo
		<i>Brassica carinata</i>	Eleven	1	Alta	954	10	954	Voleo
		<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	2	Baja	795	6	477	Voleo
		<i>Brassica carinata</i>	Eleven	2	Baja	795	4	318	Voleo
		<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	3	Media	636	9	572	Voleo
		<i>Brassica carinata</i>	Eleven	3	Media	636	6	382	Voleo
3	3164	<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	1	Alta	304	15	456	2 líneas
		<i>Brassica carinata</i>	Eleven	1	Alta	304	10	304	2 líneas
		<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	2	Media	2400	9	2160	2 líneas
		<i>Brassica carinata</i>	Eleven	2	Media	2400	6	1440	2 líneas
		<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	3	Media	460	9	414	1 línea
		<i>Brassica carinata</i>	Eleven	3	Media	460	6	276	1 línea
4	3676	<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	1	Alta	2200	15	3300	2 líneas
		<i>Brassica carinata</i>	Eleven	1	Alta	2200	10	2200	2 líneas
		<i>Rhaphanus sativus</i>	Valencia	2	Media	1460	9	1314	2 líneas
		<i>Brassica carinata</i>	Eleven	2	Media	1460	6	876	2 líneas

3.2. Muestreo en campo, procesamiento de muestras y conservación

La forma de muestreo varió en función del objetivo perseguido, para el muestreo de insectos se empleó un aspirador portátil y la técnica del embudo de Berlese, para el conteo de nematodos se empleó el embudo de Bearmann, en cuanto conteo de malas hierbas se empleó un aro con una superficie de 0.25m², siendo este también empleado para la recogida de plantas para la cuantificación de biomasa

3.2.1. Aspiración de artrópodos

El muestreo de los artrópodos se realizó con un aspirador STERWINS 3000S que trabaja con un motor eléctrico de 3000W de potencia con una velocidad de soplado de 270 km/h. El aspirador se componía de un ventilador que realiza la succión del aire, conectado a un tubo cilíndrico, al final del cual se adaptaba una bolsa de malla fina donde se recogían los artrópodos. Por último, un cono en el interior del cual hay una malla metálica que impide la entrada de objetos grandes (hojas, flores...) y que cumple la función de “abrazar” la zona de la planta que queremos muestrear.

El procedimiento seguido fue el de acercar el cono del aspirador tanto a flores como a hojas de la planta y mantenerlo durante 3 segundos. En cada una de las subparcelas se realizó sobre un total de 20 plantas. El material succionado, quedaba recogido en una bolsa de malla, se identificaba con una tarjeta de plástico en la que se registraba el número de la parcela y la fecha de muestreo y se transportaba en una nevera al laboratorio. En el laboratorio las muestras se conservaron en el congelador durante al menos 48 horas a -20 ° C, ya que el frío mata los artrópodos sin dañarlos. A continuación, se procedía a la separación de los artrópodos capturados de otros restos como tierra, hojas secas, etc. mediante unos tamices de diferente tamaño de luz de malla y se conservaron en el congelador en placas Petri de 5 cm de diámetro hasta el momento de su identificación. (Laborda, 2011).



Figura 3. Aspirador

3.2.2. Extracción y conteo de nematodos

Para la extracción de nematodos se empleó como método el embudo de Baermann. Esta técnica consiste en un embudo de plástico de tamaño mediano, en la parte inferior se ajusta una manguera, la cual es cerrada mediante la presión ejercida de una pinza. El embudo se coloca en un soporte y se llena con agua potable, a continuación, se sumerge dentro del embudo y sobre una membrana que sirve de filtro se incorporan 100 gramos (ensayo 2017) y 200 gramos (ensayos 2018) de muestra de suelo envuelta en papel poroso.

Pasadas 48 horas, todas las formas activas de nematodos han pasado a través del papel y son recogidas mediante la apertura de la manguera en un volumen de agua de 5 ml con la ayuda de una jeringuilla.

El conteo se realizó con la ayuda de un microscopio de 40 aumentos y una placa Petri de 55 milímetros de diámetro en la que se introdujo la muestra de 5 ml extraída del embudo de Baermann.

Para facilitar el conteo se leyeron los nematodos situados en el centro de la placa, haciendo un barrido por todo el diámetro de esta, de izquierda a derecha, una vez contados los nematodos se realizó una interpolación (se multiplica por 6.42) para conocer los nematodos contenidos en la totalidad de la placa Petri.



Figura 4. Embudo Baermann

3.2.3. Extracción de artrópodos y conteo

La extracción de artrópodos en suelo se realizó mediante la técnica del embudo de Berlese, que consiste en un embudo en el cual se depositan 200 gramos de muestra de tierra y se fija un bote con alcohol en la parte posterior de este, se deja un periodo de 7 días en los cuales los artrópodos contenidos en la tierra caen por gravedad al bote quedando atrapado en él. Para la conservación se empleó etanol al 70%. Por otro lado, para el conteo de artrópodos en las plantas se siguió la misma técnica del embudo de Berlese, en el cual se depositó 50 gramos de hoja por embudo y 25 gramos de flores por embudo.

El conteo se realizó con la ayuda de una lupa binocular de 20 aumentos y una placa Petri de 55 milímetros de diámetro en la que se introdujo la muestra.



Figura 5. Embudo Berlese

3.2.4. Malas hierbas

Conteo en campo.

Para el conteo de malas hierbas se emplearon cinco aros de 56 centímetros de diámetro por cada una de las 16 subparcelas del ensayo, contándose las hierbas contenidas en ellos.



Figura 6. Conteo de malas hierbas

Conteo en invernadero.

Para el conteo en invernadero se aprovechó la tierra recogida en campo y se añadió en macetas de cinco litros de capacidad, incorporando en ellas 500 gramos de la tierra citada, se emplearon cuatro repeticiones por cada tesis del ensayo.



Figura 7. Conteo en invernadero

3.2.5. Cuantificación de biomasa

Para la cuantificación de la biomasa se tuvo en cuenta el peso fresco y el peso seco, para la medición del peso fresco y dependiendo de cómo se sembró la parcela, se emplearon dos técnicas, por un lado, si se sembró a voleo, se empleó un aro de 56 cm de diámetro, arrancando las plantas contenidas en él y realizando esta operación tres veces por cada subparcela del ensayo, a continuación, se depositaron en bolsas de basura.

Por otro lado, si el ensayo se sembró por filas, se arrancaron las plantas contenidas en un metro de fila, realizando esta operación tres veces por subparcela, posteriormente se depositaron las plantas en bolsas de basura.

El pesaje se realizó con la ayuda de un peso portátil que pesó las plantas de rábano contenidas en cada bolsa de basura.



Figura 8. Contenido de biomasa (izquierda) y peso empleado (derecha)

Para la cuantificación de la biomasa seca, se dejó secar las plantas recogidas en campo en el invernadero durante un mes aproximadamente.



Figura 9. Proceso de secado de biomasa

3.3. Elección de especies

Las especies vegetales seleccionadas como agentes biofumigantes debido a sus propiedades biocidas frente a patógenos del suelo fueron, por un lado, *Rhapanus sativus* y *Brassica carinata*, pertenecientes a la familia de las crucíferas y *Sorghum spp* y *Sorghum sudanense*, especies pertenecientes a la familia de las gramíneas.

3.3.1. Crucíferas

Características *Rhapanus sativus* var *Valencia*

- Variedad con múltiple resistencia a *Meloidogyne spp*: *M. chitwoodi*, *M. incognita*, *M. arenaria*.
- Floración tardía y gran crecimiento vegetativo.
- Alto contenido de materia seca y una rápida y eficaz cobertura del terreno.
- Producción de biomasa muy alta.
- Siembra recomendada en otoño.

Características *Brassica carinata* var *Eleven*

- Resistente a *Meloidogyne javanica* y *M. incognita*.
- Muy resistente a hongos: *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Pythium*.
- Muy resistente a la subida a flor en verano.
- Elevada producción de biomasa.
- Siembra recomendada en primavera.



Figura 10. *Rhapanus sativus* (flor blanca) y *Brassica carinata* (flor amarilla)

3.3.2. Gramíneas

Características *Sorghum spp* var *SUSU*

- Elevado contenido de alcaloides cianógenos en plantas jóvenes.
- Alto contenido de materia seca.
- Elevada producción.
- Rica en materias nutritivas.
- Gran número de hojas anchas con una buena relación hoja/tallo.
- Siembra recomendada en primavera.



Figura 11. Sorghum spp

Características *Sorghum sudanense* var *Pipper*

- Variedad de ciclo semiprecoz y de altas producciones forrajeras.
- Rebrotos rápidos, rústico y adaptable a todo tipo de condiciones.
- Tallos finos y follaje abundante.
- Elevado contenido de alcaloides cianógenos en plantas jóvenes.
- Siembra recomendada en primavera.



Figura 12. Sorghum sudanense

3.3. Ensayos

3.3.1. Ensayo número 1: Biofumigación verano Alcácer 2017

La parcela empleada en el ensayo número 1 se ubicó en el municipio de Alcácer en la finca SAIFRESC, parcela 5 y coordenadas UTM X: 719707, Y:4363626, con una superficie total de 800 m².



Figura 13. Ubicación ensayo 1

Dicho ensayo constó de una biofumigación con los cultivos de rábano (*Rhaphanus sativus*), pasto del Sudán (*Sorghum sudanense*) y sorgo (*Sorghum spp*)

La parcela se dividió en dieciséis subparcelas en las cuales se sembraron a fecha de 13 de Julio de 2017, cuatro subparcelas con rábano, cuatro con pasto del Sudán, cuatro con sorgo y otras cuatro se dejaron como testigo de la experiencia.

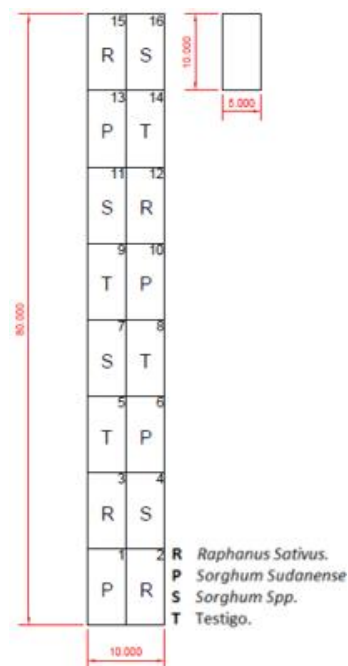


Figura 14. Plano parcela ensayo 1

Para la emergencia y desarrollo se aplicó un riego a manta por semana cada miércoles durante todo el ciclo de cultivo, aplicándose un total de cinco riegos.



Figura 15. Riego a manta

A fecha 23 de agosto se realizó el triturado y enterrado de los cultivos en la parcela dando comienzo así al proceso de biofumigación.



Figura 16. Parcela antes de la biofumigación (izquierda) y durante (derecha)

Toma de muestras

En la parcela se realizaron cuatro muestreos de nematodos, siendo el primero el 20 de julio y el segundo el día 3 de agosto, ambos durante el desarrollo de los cultivos, posteriormente al entierro de los cultivos se realizaron otros dos conteos, a fecha 13 y 27 de septiembre. Por otro lado, se realizaron dos conteos de malas hierbas a fecha 6 de septiembre y 25 de octubre.

Cultivo posterior.

El día 17 de octubre comenzó el sembrado del cultivo posterior a la biofumigación, se sembraron zanahorias, las cuales fueron cosechadas durante las dos primeras semanas de abril, durante el ciclo del cultivo, dichas zanahorias fueron regadas mediante un sistema de riego por goteo.



Figura 17. Cultivo zanahoria y riego por goteo (derecha)

Durante el proceso de cosecha y con el fin de conocer si la incorporación de material vegetal al suelo, aparte de tener efectos biocidas, también tuvo efecto en el tamaño y peso de zanahorias, debido a la incorporación de materia orgánica, se realizó un muestreo de zanahorias en la parcela, dicho muestreo se realizó pesando y midiendo las zanahorias contenidas en 60 centímetros de subparcela, repitiendo esta operación por cada subparcela del ensayo.

2.3.2. Ensayo número 2: Biofumigación invierno Alcácer 2018

El ensayo número dos se llevó a cabo en la empresa SAIFRESC, en el término municipal de Alcácer, en la parcela nº 7 con referencia X: 719707, Y:4363626, empleando un total de 2385 m².



Figura 18. Ubicación parcela ensayo 2

La parcela se dividió en tres subparcelas en los cuales se sembraron el 6 de marzo, dos variedades diferentes de rábano, siendo un 60% *Rhaphanus sativus* (variedad con flores blancas) y un 40% *Brassica carinata eleven* (variedad con flores amarillas), en cuanto a dosis, se sembró, la subparcela nº1 con 25 kg por Hectárea, la subparcela nº2 con dosis de 10 kg por Hectárea y la subparcela nº3 con una dosis de 15 kg por Hectárea.

Para la emergencia y desarrollo del cultivo se aprovechó la humedad contenida en el suelo debido al periodo de lluvias que aconteció días antes. En fecha 17 de abril se realizó el único riego empleado durante el ciclo de cultivo, se trató de un riego a manta.



Figura 19. Parcela ensayo 2

El día 25 de mayo se realizó el triturado y enterrado del rábano en la parcela dando comienzo así al proceso de biofumigación.

Toma de muestras

El día 23 de mayo se realizaron tres tipos de recogidas de muestras, por un lado y con la ayuda de un aspirador se cogieron muestras de insectos mediante la aspiración de hojas y de

flores de *Raphanus sativus* y de hojas y flores de *Brassica carinata*, realizando un total de sesenta aspiraciones, veinte por subparcela.

También se arrancaron plantas completas con el fin de poner hojas y flores en embudo de Berlese, cogiendo diez plantas de *Raphanus sativus* y otras tantas de *Brassica carinata*, realizando esta operación en las tres subparcelas.

Además, se arrancaron plantas completas con el fin de medir su biomasa, tanto fresca como seca, cogiendo una superficie de 0.25 m² por subparcela y repitiendo la operación tres veces.

A fecha 17 de junio se cogieron muestras de un kilo de tierra por cada subparcela con el fin de analizar en el laboratorio el contenido de artrópodos y nematodos. A modo de testigo del proceso y con el fin de conocer las propiedades biológicas del suelo con el manejo de diversos cultivos, se extrajeron muestras de tierra de los cultivos lindantes a la biofumigación, se cogió tierra donde se había cultivado cebolla, kale, zanahoria e hinojo.

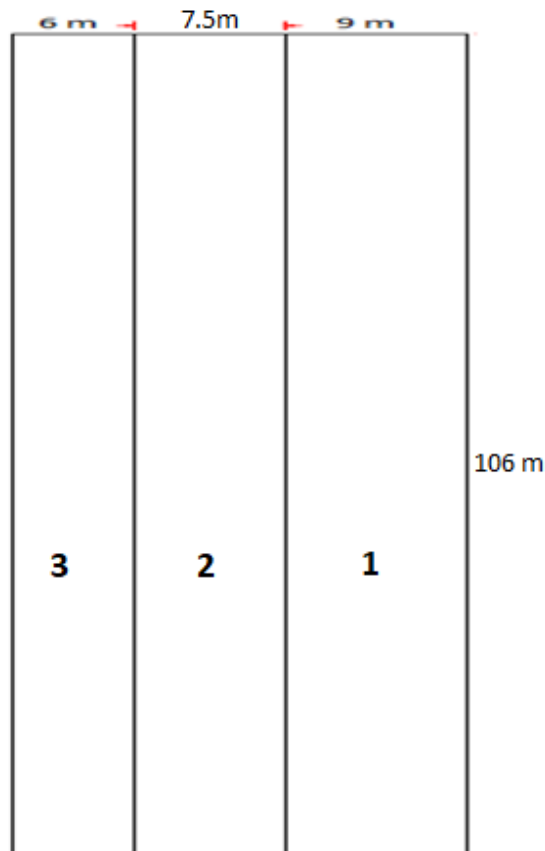


Figura 20. Plano parcela ensayo 2

3.3.3. Ensayo número 3: Biofumigación primavera Alboraiá 2018

El ensayo número tres se llevó a cabo en la Alquería Vicent Martí, en el término municipal de Alboraiá, en la parcela nº 161 con referencia X: 730049.19, Y: 4377370.71, empleando un total de 3164 m².



Figura 21. Ubicación parcela ensayo 3

La parcela se dividió en tres subparcelas en las cuales se sembraron a fecha 2 de abril, dos variedades diferentes de rábano, siendo un 60% *Rhaphanus sativus* y un 40% *Brassica carinata eleven*, en cuanto a dosis, se sembraron, en la subparcela nº1, dos filas a dos líneas por fila con 25 kg por Hectárea, en la subparcela nº2, dieciséis filas a dos líneas por fila con 15 kg por Hectárea y por último en la subparcela nº3, dos filas a una línea por fila con 15 kg por Hectárea.

En cuanto a riego, no se empleó durante el periodo de siembra y desarrollo del cultivo, el cual fue triturado y enterrado el día 19 de mayo, tan solo se aplicó un riego a manta el día 22 de mayo, una vez iniciado el proceso de la biofumigación con el fin de sellar la parcela y hacer más efectivo el proceso.

Toma de muestras

A fecha 18 de mayo se realizaron tres tipos de recogidas de muestras, por un lado y con la ayuda de un aspirador se cogieron muestras de insectos mediante la aspiración de hojas y de flores de *Raphanus sativus* y *Brassica carinata*, realizando un total de sesenta aspiraciones, veinte por subparcela.

También se arrancaron plantas completas con el fin de poner hojas y flores en embudo de Berlese, cogiendo diez plantas de *Raphanus sativus* y otras tantas de *Brassica carinata* y realizando esta operación en las tres subparcelas.

Además, se arrancaron plantas completas con el fin de medir su biomasa, tanto fresca como seca, cogiendo una superficie de 1 m² por subparcela y repitiendo la operación tres veces.

Por otro lado, el 25 de junio se cogieron muestras de un kilo de tierra por cada subparcela, así como un testigo con el fin citado en los anteriores ensayos.



Figura 22. Parcela Ensayo 3

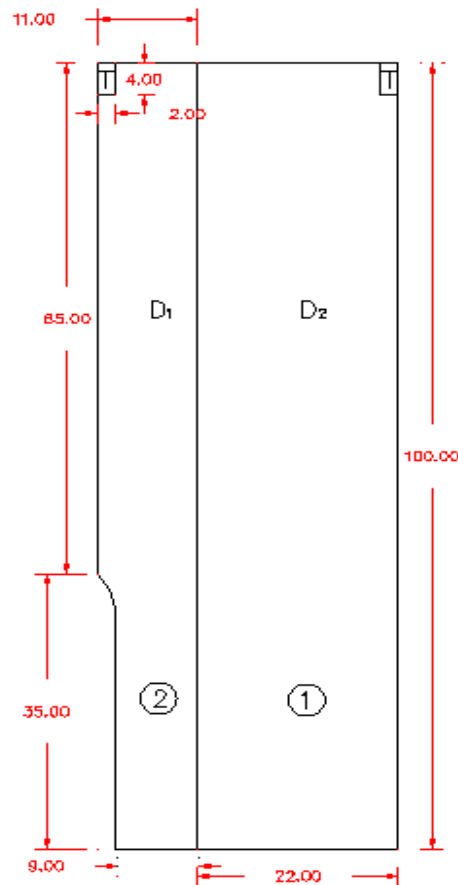


Figura 23. Plano parcela 3

3.3.4. Ensayo número 4: Biofumigación primavera Meliana 2018

El ensayo número cuatro se llevó a cabo en el término municipal de Meliana, en la parcela nº 26 con referencia X: 728963.58, Y: 4378683.44, empleando un total de 3676 m².



Figura 24. Ubicación parcela ensayo 4

La parcela se dividió en dos subparcelas en los cuales se sembraron a fecha 15 de abril, dos variedades diferentes de rábano, siendo un 60% *Rhaphanus sativus* y un 40% *Brassica carinata eleven*, en cuanto a dosis se sembraron a dos filas por línea, por un lado, una subparcela con 25 kg por Hectárea, y por otro lado una subparcela con una dosis de 15 kg por Hectárea.

En cuanto a riego, no se empleó durante el periodo de siembra y desarrollo del cultivo, el cual fue triturado y enterrado el día 14 de junio, tan solo se aplicó un riego a manta el día 16 de junio, una vez iniciado el proceso de la biofumigación con el fin de sellar la parcela.

Toma de muestras

A fecha 12 de junio se realizaron tres tipos de recogidas de muestras, por un lado y con ayuda de un aspirador se cogieron muestras de insectos mediante la aspiración de hojas y de flores de *Rhaphanus sativus* y de *Brassica carinata*, realizando un total de cuarenta aspiraciones, veinte por subparcela.

También se arrancaron plantas completas con el fin de poner hojas y flores en embudo de Berlese, siguiendo el procedimiento de los otros ensayos.

Además, se arrancaron plantas completas con el fin de medir su biomasa, tanto fresca como seca, cogiendo una superficie de 1 m² por subparcela y repitiendo la operación tres veces.

Por otro lado, y a fecha 4 de julio se cogieron muestras de un kilo de tierra por cada subparcela, así como un testigo con el fin citado en los anteriores ensayos.



Figura 25. Parcela antes de la biofumigación (izquierda) y durante (derecha)

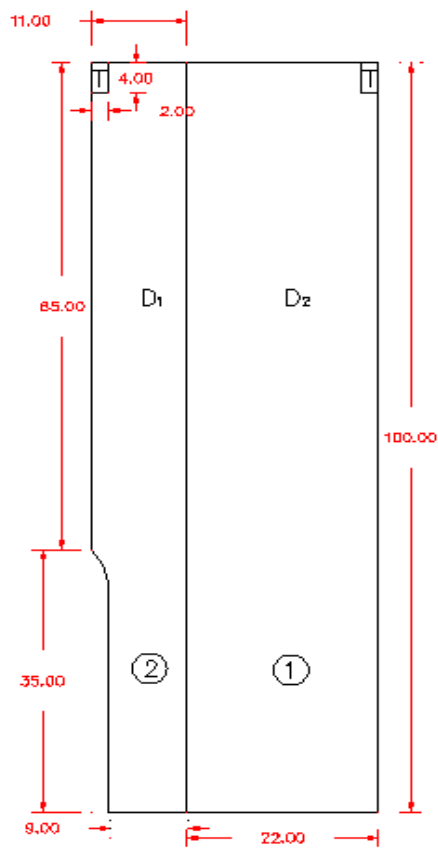


Figura 26. Plano parcela ensayo 4

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Biofumigación verano 2017. Alcácer

En este ensayo se comparó el efecto de tres especies (*Rhapanus sativus*, *Sorghum spp* y *Sorghum sudanense*) sobre malas hierbas y nematodos. Además, se evaluó el efecto sobre el siguiente cultivo que en este caso fue el de zanahorias.

4.1.2. Nematodos

Como se observa en los gráficos de la Figura 27, hubo un incremento de nematodos en todos los cultivos una vez incorporado el material vegetal, habiendo diferencias significativas entre el periodo que estuvo el cultivo biocida presente en el suelo y el periodo tras la incorporación del material vegetal. En cuanto al factor cultivos, el rábano presentó el mayor número de individuos de nematodos (con diferencias significativas frente al testigo) seguido del pasto y finalmente el sorgo, el testigo apenas tuvo variabilidad durante este periodo de tiempo.

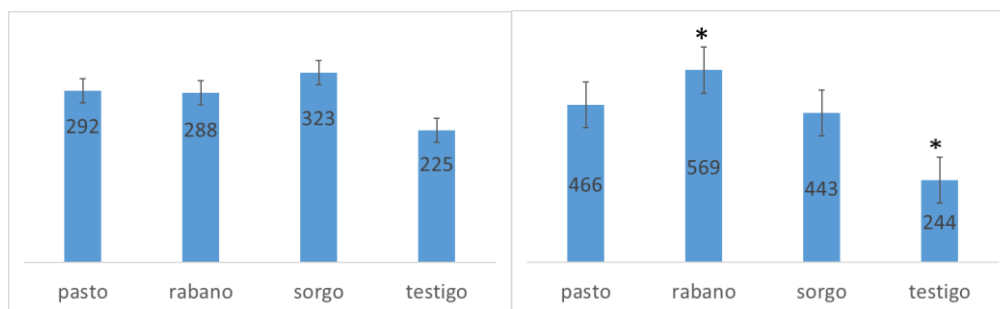


Figura 27. Promedio de nematodos presentes en 100 gramos de suelo antes de la biofumigación (izquierda) y después (derecha). La línea vertical es el error estándar. * Diferencias significativas

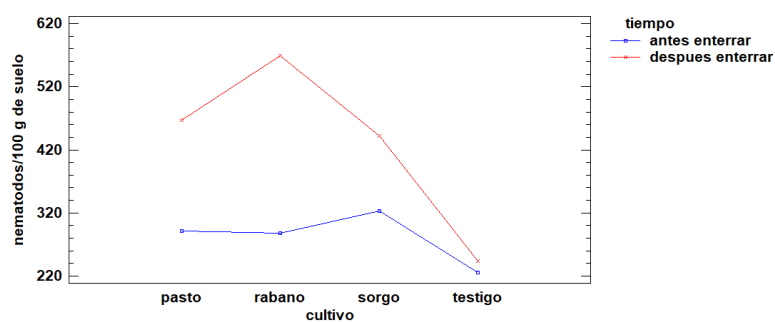


Figura 28. Evolución de número de nematodos según cultivos en función del tiempo

Cabe destacar que durante los cuatro muestreos realizados no se encontró ningún nematodo fitófago, siendo todos los nematodos contados saprófitos.

4.1.2. Malas hierbas

Para la cuantificación de malas hierbas, se llevaron a cabo dos tipos de conteos, por un lado, un muestreo directo sobre el cultivo en campo, y por otro lado un conteo realizado en invernadero.

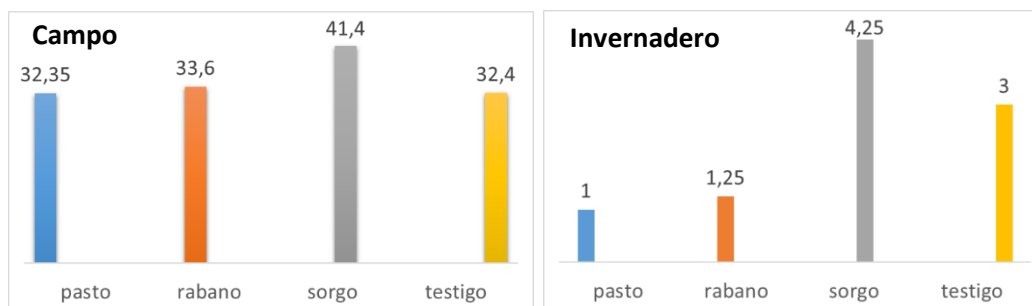


Figura 29. Resultados conteo de malas hierbas en campo y en invernadero. Los resultados obtenidos en campo son el promedio de malas hierbas contenido en cada tesis en una superficie de 5 metros cuadrados por tesis. Los resultados en invernadero son el promedio de malas hierbas contenido en las macetas por cada tesis (4 macetas por tesis).

En primer lugar, se analiza los datos del muestreo en campo, se observa que el pasto es el que mayor efecto inhibitorio tiene sobre las malas hierbas, sin diferencias considerables con el testigo, seguido del rábano, por último las parcelas sembradas con sorgo fueron aquellas en las que mayor número de malas hierbas crecieron.

En cuanto al conteo realizado en invernadero, muestra que al igual que ocurrió en el campo, el cultivo de pasto, es el que presenta un menor número de malas hierbas, seguido del rábano (ambos cultivos presentan diferencias significativas frente al sorgo), en este caso, en el testigo hubo un mayor crecimiento de malas hierbas que en el campo, por último, el sorgo volvió a ser la especie con peor efecto inhibitorio.

4.1.3. Efecto de la biofumigación en el cultivo posterior

Tras el tratamiento se comprobó si la incorporación de material vegetal al suelo afectaba en el tamaño y el peso del cultivo posterior, en este caso fueron zanahorias.

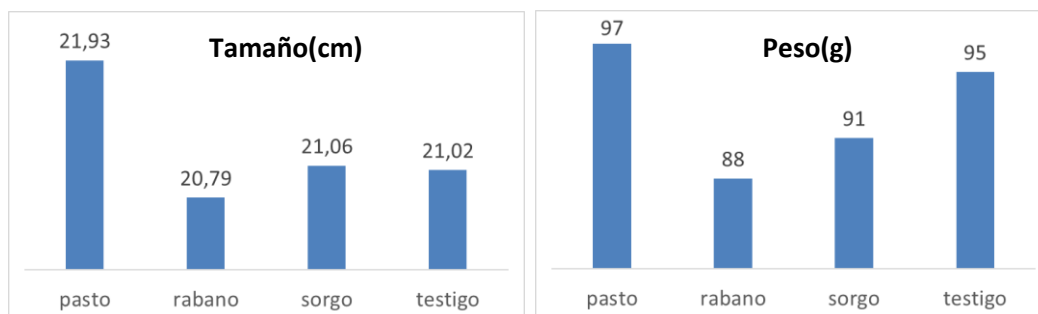


Figura 30. Tamaño y peso de la zanahoria tras la incorporación de material vegetal de los diferentes cultivos biocidas

En primer lugar, se analizan los resultados del tamaño de las zanahorias contenidos en la Figura 30, en los cuales se observa que, las parcelas donde se incorporó pasto, las zanahorias fueron las de mayor tamaño, seguido de sorgo y el testigo (habiendo una diferencia de tamaño entre ambos mínima), y, por último, se encuentra el rábano, en cuyas parcelas se encontraron las zanahorias de menor tamaño.

En segundo lugar, se analizan los datos del peso de las zanahorias según las especies, en este caso y al igual que en el tamaño, se obtuvo que las zanahorias con mayor peso fueron aquellas parcelas en las que se incorporó biomasa de pasto, alcanzando valores medios de entorno 100 gramos, seguido del testigo y del sorgo, por último, las parcelas con rábano fueron en las que se obtuvieron las zanahorias con menor peso, siendo esta diferencia de entorno al 10 % con respecto de las del pasto.

4.2. Biofumigación invierno 2018. Alcácer

En este ensayo se comparó el efecto de dos variedades de rábano (*Rhapanus sativus* var *Valencia* y *Brassica carinata* var *Eleven*) a diferentes dosis de siembra (alta, media y baja) sobre nematodos y microartrópodos. Además, se evaluó el contenido de fauna beneficiosa presente en el cultivo biocida antes de ser enterrado, además, se realizó una evaluación de la biomasa contenida en un metro cuadrado de cada subparcela según la dosis empleada de rábano.

4.2.1 Biomasa

En la Figura 31 se muestra la biomasa obtenida por metro cuadrado según las dosis de siembra aplicada.

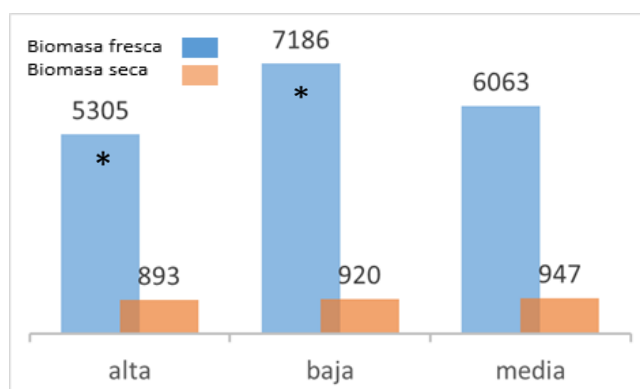


Figura 31. Promedio de biomasa en gramos contenida en un metro cuadrado para cada dosis de siembra. * Diferencias significativas

Se observa como la dosis baja (10 kg/Ha) fue la que obtuvo un mayor contenido de biomasa fresca por metro cuadrado, por otro lado, la dosis media (15 kg/Ha) fue la que mayor contenido de biomasa seca obtuvo (cabe destacar que esta parcela lindaba con un cultivo de zanahoria, por lo que el tractor tuvo que pasar por encima del rábano para la recolección de estas, lo que repercutió en los rábanos, ya que por donde pasó el tractor no se desarrollaron, provocando que hubieran espacios libres, por lo que hubo una menor competencia por el terreno y los rábanos se desarrollaron más, por tanto hubo mayor peso del rábano). Por último, con dosis alta (25 kg/ha), se obtuvo el menor contenido de biomasa, tanto fresca como seca, discrepando estos resultados con lo publicado por Pekarek *et al.*, (2013), los cuales citan que la mayor producción de biomasa de rábano se produce con la dosis de siembra más alta.

4.2.2. Nematodos

Como se observa en el gráfico de la Figura 32, la parcela con la dosis de siembra media fue la que presentó un mayor número de nematodos saprófitos, seguidas de las parcelas testigo, las cuales fueron tierra en la que había habido anteriormente cultivo de cebolla, kale, hinojo y

zanahoria, donde no se realizó biofumigación pero había un contenido de residuo de cosecha considerable, a continuación, la parcela con dosis baja y para finalizar, la parcela con menor número de nematodos saprófitos fue la sembrada con la dosis alta, siendo esta la que menor peso tanto de biomasa fresca como seca obtuvo como se citó en el apartado anterior.

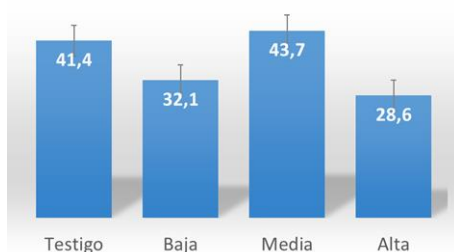


Figura 32. Promedio de nematodos tras la biofumigación contenidos en 200 gramos de tierra según dosis de siembra y testigo. La barra vertical muestra el error estándar.

4.2.3. Microartrópodos

En este ensayo se realizó un muestreo de microartrópodos contenidos en el suelo con el fin de conocer si la incorporación de material vegetal aumentaba la población, Los resultados obtenidos se encuentran recogidos en la Figura 33.

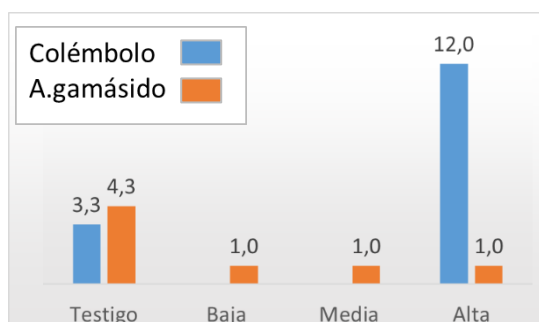


Figura 33. Promedio de microartrópodos contenidos en 200 gramos de suelo para cada subparcela del ensayo.

Se concluye que el mayor número de individuos de colémbolos se encuentra en la subparcela con la dosis de siembra alta, seguido del testigo con un promedio menor, en cuanto a las subparcelas con dosis baja y media, no se atrapó ningún individuo de este orden.

Por otro lado, las parcelas testigo obtuvieron el mayor promedio de individuos de ácaros gamásidos, siendo más elevado que las parcelas donde se produjo la biofumigación, las cuales presentaron un individuo cada una. (Las parcelas testigo contenían una elevada cantidad de residuos de cosechas).

4.2.4. Artrópodos beneficiosos

Para la cuantificación de fauna beneficiosa contenida en el cultivo biocida, se realizaron dos tipos de muestreos, por un lado, una aspiración de la planta entera y por otro, el empleo del embudo de Berlese donde se depositó hoja y flores de dicho cultivo.

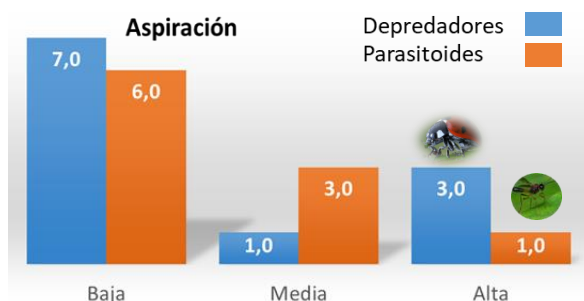


Figura 34. Artrópodos beneficiosos extraídos por aspiración. El proceso constó de 20 aspiraciones (una aspiración por planta) de 3 segundos de tiempo cada una, repitiendo este proceso en cada subparcela del ensayo.

Como se puede observar en la Figura 34, la dosis baja fue la que obtuvo la cifra más elevada tanto de depredadores, como de parasitoides, por otro lado, la dosis media y alta obtuvieron resultados similares.

En cuanto a la fauna beneficiosa obtenida por la técnica de Berlese se observa en la Figura 35 un promedio de captura de individuos baja, tanto para la dosis alta, como para la baja, en la subparcela con dosis media no se obtuvo ninguna captura.

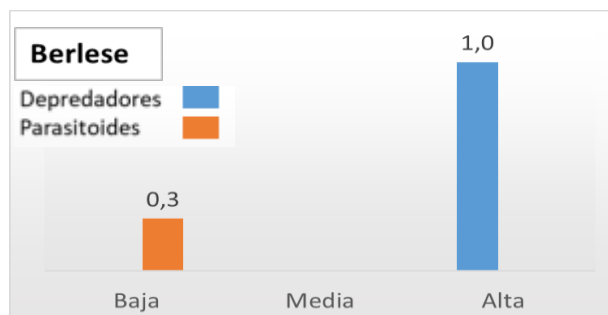


Figura 35. Artrópodos beneficiosos extraídos por la técnica del embudo de Berlese. Se depositaron por un lado 50 gramos de hojas de *Raphanus sativus* en un embudo y 50 gramos de hojas *Brassica carinata* en otro, y por otro lado 25 gramos de flores *Raphanus sativus* y otro de *Brassica carinata*, repitiendo esta acción para cada dosis.

4.3. Biofumigación primavera 2018. Alboraiá

En este ensayo se emplearon los mismos cultivos y se evaluaron los mismos factores que en el ensayo realizado en invierno, la única variación fue que tan solo se empleó dos dosis de siembra (alta y media).

4.3.1. Biomasa

La Figura 36 muestra la biomasa obtenida por metro cuadrado según las dosis de siembra aplicada.

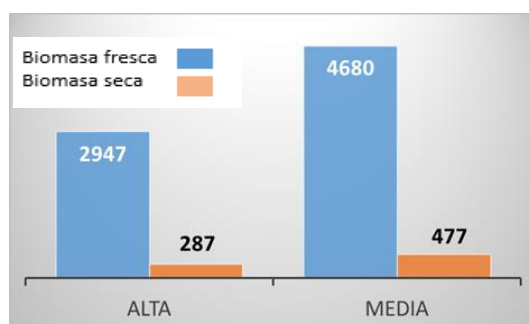


Figura 36. Promedio de biomasa en gramos contenida en un metro cuadrado en función de la dosis de siembra.

Se observa como la dosis media (15 kg/Ha) fue la que obtuvo un mayor contenido de biomasa por metro cuadrado con respecto a la dosis alta (25 kg/Ha), habiendo diferencias significativas (tanto para fresca como para seca). Respecto a la biomasa fresca se obtuvo un 38% más y en cuanto a la biomasa seca hubo un incremento de un 40% con respecto a la dosis alta.

4.3.2 Nematodos

En cuanto a nematodos se observa en la Figura 37 que hay un incremento considerable entre el testigo y las subparcelas con aporte de biomasa, siendo entre estas una diferencia de individuos mínima.

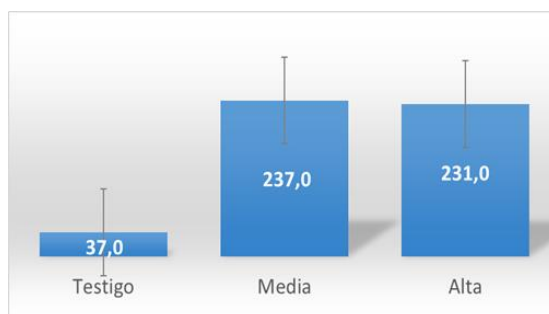


Figura 37. Promedio de nematodos tras la biofumigación contenidos en 200 gramos de tierra según dosis de siembra y testigo. La barra vertical muestra el error estándar.

4.3.3. Microartrópodos

La Figura 38 muestra los resultados obtenidos de microartrópodos.

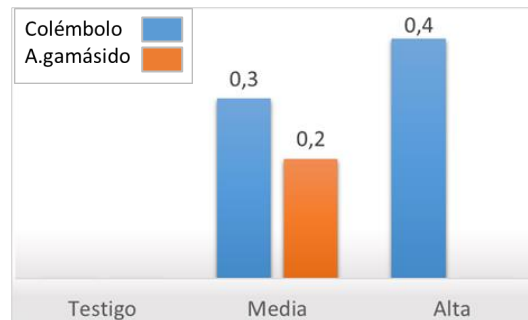


Figura 38. Promedio de microartrópodos contenidos en 200 gramos para cada subparcela del ensayo de suelo.

De la gráfica anterior se concluye que la presencia de microartrópodos se establece en las subparcelas en las que se realizó biofumigación, habiendo un promedio de colémbolos similar entre la parcela con dosis de siembra alta y las de dosis de siembra media similar. En cuanto a ácaros gamásidos, tan solo hubo presencia en las parcelas de dosis media.

4.3.4. Artrópodos beneficiosos

En cuanto a la cuantificación de fauna beneficiosa, los resultados se muestran en la Figura 39.

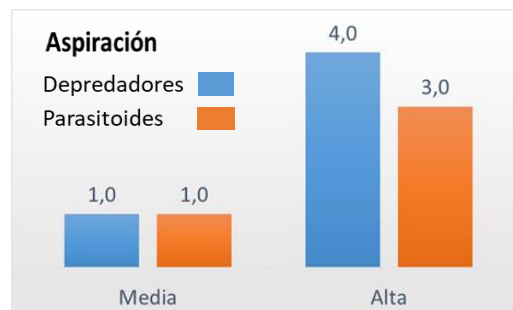


Figura 39. Artrópodos beneficiosos extraídos por aspiración. El proceso constó de 20 aspiraciones (una aspiración por planta) de 3 segundos de tiempo cada una, repitiendo este proceso en cada subparcela del ensayo.

El mayor número de artrópodos beneficiosos, tanto depredadores como parasitoides se obtuvo de la parcela con mayor dosis de siembra, las parcelas con dosis de siembra media obtuvieron un promedio menor tanto de parasitoides como depredadores.

En cuanto a la fauna beneficiosa obtenida por la técnica de Berlese se observa en la Figura 40 que, en la dosis alta, se obtuvo un promedio igual de depredadores y parasitoides, mientras que a dosis media hubo un aumento de capturas de parasitoides con respecto a la dosis alta, pero se redujo la captura de depredadores.

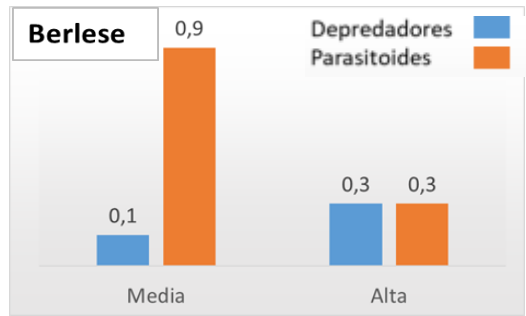


Figura 40. Atrópodos beneficiosos extraídos por la técnica del embudo de Berlese. Se depositaron por un lado 50 gramos de hojas de *Raphanus sativus* en un embudo y 50 gramos de hojas *Brassica carinata* en otro de y por otro lado 25 gramos de flores *Raphanus sativus* y otro de *Brassica carinata*, repitiendo esta acción para cada dosis.

4.4. Biofumigación primavera 2018. Meliana

En este ensayo se emplearon las mismas dosis y se evaluaron los mismos factores que en el ensayo de primavera de Alboraiá, la única variación fue la extracción de tierra de las parcelas con el cultivo biocida presente, con el fin de observar si existían cambios en el suelo entre los periodos de pre-biofumigación y post-biofumigación. Los resultados fueron los siguientes.

4.4.1. Biomasa

La biomasa obtenida por metro cuadrado según las dosis de siembra aplicada se muestra en la Figura 41.

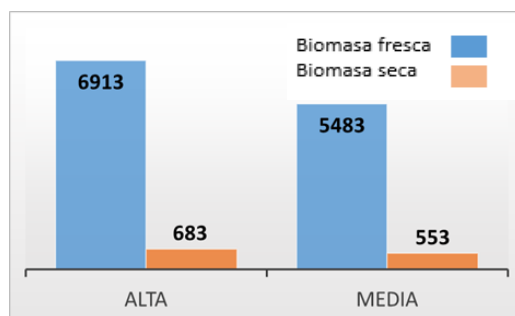


Figura 41. Promedio de biomasa en gramos contenida en un metro cuadrado para cada dosis de siembra.

En el gráfico anterior se observa como a diferencia de los otros ensayos evaluados, la dosis de siembra alta, fue la que mayor biomasa por metro cuadrado produjo, obteniendo en torno a un 20% más de peso, tanto de biomasa seca como fresca.

4.4.2 Nematodos

En lo que respecta a nematodos se observa en la Figura 42, que entre ambos periodos, el testigo no sufrió apenas variación de individuos (el testigo estaba cubierto por *Chenopodium album*, lo que pudo incidir en el elevado número de nematodos contados) por otro lado, la parcela con dosis alta si sufrió un aumento en el número de nematodos saprófitos debido a la incorporación de material vegetal, por el contrario, en la parcela con dosis media se produjo un descenso de nematodos (comentar que en esta subparcela a la semana siguiente de la biofumigación se cultivó *Sorghum sudanense*, pudiendo interferir esto en el resultado final de las especies presentes en el suelo).

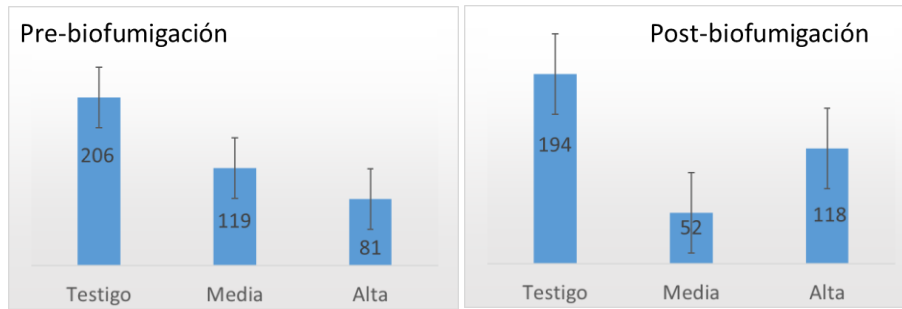


Figura 42. Promedio de nematodos antes de la biofumigación y después, contenidos en 200 gramos de tierra según dosis de siembra y testigo. La barra vertical muestra el error estándar.

4.4.3. Microartrópodos

Los resultados obtenidos en cuanto a microartrópodos se encuentran recogidos en la Figura 43.

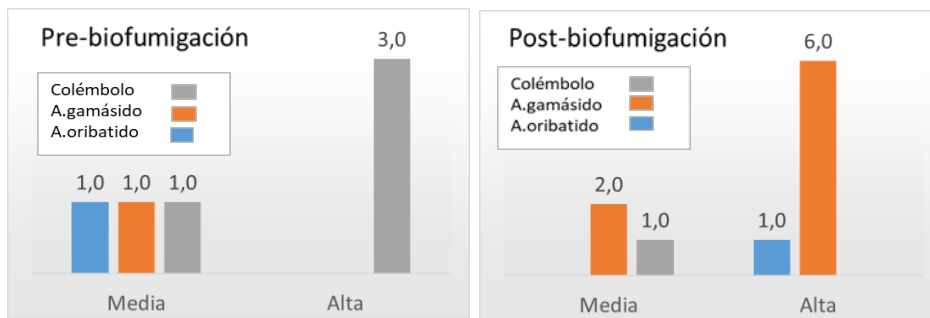


Figura 43. Promedio de microartrópodos contenidos en 200 gramos para cada subparcela del ensayo de suelo en los periodos de pre-biofumigación y post-biofumigación

Analizando la gráfica anterior a la biofumigación se observó que había mayor variabilidad de individuos en la subparcela con dosis media, por parte de la parcela con dosis alta tan solo hubo presencia de colembólos.

Una vez realizada la biofumigación se observó en la dosis media, un aumento de ácaros gamásidos, además se mantuvo un individuo de colémbolo, en cuanto a la dosis alta, en contra de lo obtenido en la pre-biofumigación, no se capturó ningún colémbolo, en cambio hubo una captura considerable de ácaros gamásidos y un ácaro oribatido.

4.3.4. Artrópodos beneficiosos

En cuanto a la cuantificación de fauna beneficiosa, los resultados fueron los mostrados en la Figura 44.

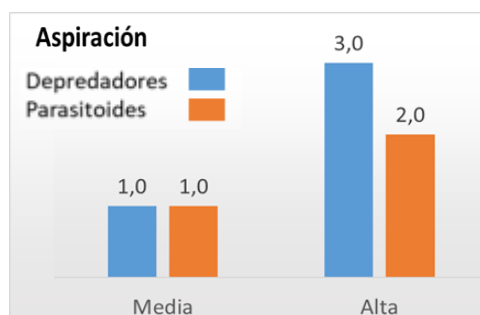


Figura 44. Artrópodos beneficiosos extraídos por aspiración. El proceso constó de 20 aspiraciones de 3 segundos de tiempo cada una, repitiendo este proceso en cada subparcela del ensayo

El mayor número de artrópodos beneficiosos, tanto depredadores como parasitoides se obtuvo de la parcela con mayor dosis de siembra, respecto a la parcela con dosis de siembra media, en cuanto a la técnica del embudo de Berlese no se obtuvo ningún individuo de ninguna especie beneficiosa.

El análisis de los resultados obtenidos en los cuatro ensayos realizados durante los años 2017 y 2018, desprende que tras la realización de la técnica de biofumigación hubo un incremento de especies saprófitas, esto es debido según Bello *et al.*, (1998) por el proceso de biofumigación, que además de producir compuestos volátiles letales, también se liberan compuestos que estimulan los antagonistas saprófitos del suelo, tales como los aldehídos, alcoholes, y o toxinas alelopáticas, los cuales ayudan al incremento de una microflora beneficiosa, además dichas especies saprófitas actuaron como bioindicadores demostrando que no hubo toxicidad en el proceso.

En cuanto a la eficacia de la biofumigación, no fue del todo eficiente, debido a que, a pesar de que se produjeron los gases volátiles letales, el tiempo de retención de estos en el suelo no fue el suficiente para realizar una óptima desinfección (pues se realizó con el suelo desnudo y tan solo se empleó un riego para sellar la parcela) para ello, según Bello *et al.*,(2000) lo adecuado sería cubrir el suelo, una vez enterrado el material biocida, con plástico durante 15 días, para retener los gases en el suelo mientras dura el proceso de biofumigación, o si la incorporación del material vegetal es a una profundidad de menos de 30 centímetros, se debe aplicar riegos frecuentes para formar una capa de arcilla con el fin de retener los gases.

La biofumigación no demostró ser un proceso inmediato o a corto plazo (como ocurre con los desinfectantes químicos), por lo que se debería estudiar este proceso a largo plazo y combinándolo con otras prácticas, ya que la eficacia de la biofumigación y la prolongación de su efecto en el tiempo se incrementa cuando se incorpora dentro del sistema integrado de gestión de los cultivos, el uso de variedades resistentes y tolerantes, injertos, solarización, prácticas culturales, control biológico y baja dosis de productos químicos. (Bello *et al.*, 2000).

5. CONCLUSIONES

1. Tras el proceso de biofumigación en el ensayo de verano 2017 con los cultivos de rábano, pasto y sorgo se produjo un aumento de nematodos saprófitos. de un suelo
2. No se ha demostrado que el cultivo de rábano, pasto y sorgo tenga efecto inhibitorio frente a malas hierbas.
3. Tras la evaluación del cultivo posterior a la biofumigación de 2017, se observa que las zanahorias cultivadas donde se incorporó biomasa de pasto, fueron las de mayor peso y tamaño.
4. Se constata un ligero efecto inhibitorio en el desarrollo del cultivo posterior por parte del sorgo y rábano, pues se obtuvieron las zanahorias más pequeñas y de menor peso con estos cultivos, sobre todo con el rábano.
5. Tras los ensayos de 2018 se concluye que tras la incorporación de material vegetal hubo un aumento de fauna saprófita, tanto de nematodos, ácaros y colémbolos,
6. En los ensayos de *Raphanus sativus* y *Brassica carinata*, como norma general, la dosis de siembra más baja empleada fue la que produjo la mayor biomasa, en cuanto a peso fresco.
7. El hecho de cultivar las plantas biocidas en la parcela a desinfectar, beneficia al agricultor, por un lado, evita el transporte del material orgánico a la parcela, lo que conlleva un ahorro económico y aparte, tener las plantas presentes en la parcela genera un propio ecosistema de fauna beneficiosa, encontrando depredadores y parasitoides.
8. Todos los nematodos muestreados en los ensayos han sido saprófitos, esto puede ser debido a que las plantas empleadas para la biofumigación eran resistentes a *Meloidogyne spp.*

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aponte, A, A. Pérez, J. Tablante. 1992. Control de malezas y plagas en tomate con la utilización de residuos de cosecha. FONAIAP Divulga 9, 10-15 pp.
- Arias M, J. A. López-Pérez, R. Sanz, M. Escuer. 1999. Alternatives to methyl bromide to control nematodes in a cucumber-swiss chard rotation in greenhouses. Abstract of XXXI Annual Meeting ONTA. 21-25 June, 1999, San Juan, Puerto Rico. Nematropica 29, 115 pp.
- Barres M.T. 2006. La eliminación del bromuro de metilo en protección de cultivos como modelo mundial para la conservación del medio ambiente. Tesis doctoral. Departamento de Ecosistemas Agroforestales Universidad Politécnica de Valencia. 501 pp.
- Bello A, M Escuer, J Tello. 1999. Problemas nematológicos de los cultivos de Guatemala y su manejo agronómico. Abstracts of the XXXI Annual Meeting ONTA, June 21-25, 1999, San Juan, Puerto Rico. Nematropica 29, 116-117 pp.
- Bello A, M Escuer, R Sanz, J. A López-Pérez y P Guirao. 1997. Biofumigación, nematodos y bromuro de metilo en el cultivo de pimiento. En: A. López, J. A. Mora (Eds). Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero. Consejería de Medioambiente, Agricultura y Agua, Murcia, España, 67-108 pp.
- Bello A, López J.A, Sanz R, Escuer M., Herrero J. 2000. Biofumigation and organic amendements. In: Methyl bromide alternatives for North African and Southern European countries. Eds. UNEP, 113-141 pp.
- Bello A. 1998. Otros ejemplos de sustitución de pesticidas caso práctico: La biofumigación como alternativa a la desinfección de suelos. Daphnia, Nº 12.
- Borek,V, L.R.Elberson, J.P.McCaffrey, M.J.Morra. 1997. Toxicity of rapeseed meal and methyl isothiocyanate to larvae of the black vine weevil (Coleoptera: *Curculionidae*). J. Econ.Entom.90, 109-112 pp.
- Carrasco J. y Riquelme S. 2006. Biofumigación. Boletín INIA, 155. 41-47pp.
- Elberson L.R., V. Borek, J.P. McCaffrey, J.Morra. 1996. Toxicity of rapeseed meal-amendment soil to wireworms, *Limonijs californicus* (Coleoptera: Elasteridae). J.Agric.Entomol. 13, 323-330 pp.
- Godoy H, Villalobos S, Ramos G, León J.L, Ramírez E, Castañeda M, Corona A. 2013. Biosolarización: Técnica para el control de patógenos del suelo en invernadero. SAGARPA. Secretaria de agricultura ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. México. N º13.
- Gullino, M.L. 2000. Status of methyl bromide alternatives for soil fumigation in Southern Europe. In: Methyl bromide alternatives for North African and Southern European countries. Eds. UNEP, 87-92 pp.
- Igelmo, A. 2010. La biofumigación, método biológico de control de patógenos del suelo. PAE. Nº 11.

Intersemillas.es. (2018). Intersemillas. [online] Available at: <http://www.intersemillas.es/> [Acceso 1 Julio. 2018].

Laborda, R. (2011). Fauna asociada a cultivos arbóreos valencianos: Influencia de la especie frutal y del sistema de cultivo. 31-32 pp.

Matthiesen J, Kirkegaard J. 1993. Biofumigation, a new concept for 'clean and green' pest and disease control. Western Australian Potato Grower October, 14-15 pp.

Noble, R.R.P, C.E. Sams. 1999. Biofumigation as an alternative to methyl bromide for control of white grub larvae. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, nov. 1-4, 1999, San Diego, California, 92, 3 pp.

Pandey, D.K. 1994. Inhibition of salvinia (*Salvinia molesta* Mitchell) by parthenium (*Parthenium hydropyrum* L.). I. Effect of leaf residue and allelochemicals. Journal of Chemical Ecology 20, 3111-3122.

R.Rodríguez-Kábana (Eds). Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries. DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 301-310 pp.

Ryan A, Hoyt G, Monks D, Jennings K. 2013. Biomass production of biofumigation cover crops 'Caliente' Mustard and Oilseed Radish.

Saavedra M, Castillo F, Pérez-Melgares J.D, Hidalgo J.C, Alcántara C. 2013. Características de *Sinapis alba subsp. mairei* como Cubierta Vegetal y para Biofumigación.

Tello J.C. 1977. Algunas consideraciones sobre la desinfección de suelos hortícolas. Levante Agrícola, 191. 11-19 pp.

ANEJO

Resultados ANOVA.

Tabla 1. Análisis de la varianza para nematodos / 100 gramos de suelo

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:cultivo	340376,	3	113459,	2,06	0,1165
B:tiempo	354025,	1	354025,	6,41	0,0142
INTERACTIONS					
AB	143576,	3	47858,5	0,87	0,4636
RESIDUAL	3,09082E6	56	55193,2		
TOTAL (CORRECTED)	3,9288E6	63			

Tabla 2. Análisis de la varianza para malas hierbas en campo

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
CULTIVO	1133,74	3	377,912	1,33	0,2699
RESIDUAL	21543,0	76	283,46		
TOTAL (CORRECTED)	22676,7	79			

Tabla 3. Análisis de la varianza para malas hierbas en invernadero

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:cultivo	28,25	3	9,41667	4,81	0,0201
RESIDUAL	23,5	12	1,95833		
TOTAL (CORRECTED)	51,75	15			

Tabla 4. Análisis de la varianza para tamaño zanahoria.

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
CULTIVO	39,3978	3	13,1326	0,92	0,4315
RESIDUAL	2922,62	205	14,2567		
TOTAL (CORRECTED)	2962,02	208			

Tabla 5. Análisis de la varianza para peso zanahoria

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:tesis	2700,76	3	900,254	0,89	0,4455
RESIDUAL	206599,	205	1007,8		
TOTAL (CORRECTED)	209300,	208			

Tabla 6. Análisis de la varianza para peso fresco/m2. Ensayo 2

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:dosis	6,50931E6	2	3,25465E6	5,55	0,0359
RESIDUAL	4,10299E6	7	586142,		
TOTAL (CORRECTED)	1,06123E7	9			

Tabla 7. Análisis de la varianza para peso seco/m2. Ensayo 2

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:dosis	2088,01	2	1044,01	0,05	0,9514
RESIDUAL	145612,	7	20801,6		
TOTAL (CORRECTED)	147700,	9			

Tabla 8. Análisis de la varianza para peso fresco/m2. Ensayo 3

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:dosis	72200,0	1	72200,0	37,16	0,0005
RESIDUAL	13600,0	7	1942,86		
TOTAL (CORRECTED)	85800,0	8			

Tabla 9. Análisis de la varianza para peso seco/m2. Ensayo 3

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:dosis	6,00889E6	1	6,00889E6	41,65	0,0003
RESIDUAL	1,00987E6	7	144267,		
TOTAL (CORRECTED)	7,01876E6	8			

Tabla 10. Análisis de la varianza para peso fresco/m2. Ensayo 4

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:dosis	3,06735E6	1	3,06735E6	3,92	0,1189
RESIDUAL	3,13093E6	4	782733,		
TOTAL (CORRECTED)	6,19828E6	5			

Tabla 11. Análisis de la varianza para peso seco/m2. Ensayo 4

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>Df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Value</i>
MAIN EFFECTS					
A:dosis	25350,0	1	25350,0	2,81	0,1692
RESIDUAL	36133,3	4	9033,33		
TOTAL (CORRECTED)	61483,3	5			