



Efectos de diferentes métodos de control de *Globodera* spp. sobre la actividad microbiológica del suelo.

Alejandro Martín, Sue Rodríguez,
Santiago Perera, Domingo Ríos

EFFECTOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE CONTROL DE *Globodera* spp. SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA DEL SUELO



Martín Rosado, A; Rodríguez Romero, A.S.; Perera González, S.; Ríos Mesa, D.

1.- INTRODUCCIÓN

La presencia en el suelo de altas poblaciones del nematodo dorado (*Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*) es uno de los problemas fitosanitarios del cultivo de la papa en Tenerife. Las estrategias más utilizadas para paliar las pérdidas son el uso de cultivares resistentes o tolerantes junto con medidas de control, fundamentalmente químicas. El control químico consiste en la utilización de dos tipos de nematicidas, los fumigantes del suelo y los no fumigantes. En la actualidad, como producto fumigante sólo queda el Metam sodio, que es el que se emplea mayoritariamente para el control de *Globodera* spp. en la zona sur de Tenerife, y especialmente en el municipio de Vilaflor. Esta materia activa y en la actualización con fecha de 02/09/2013 se encuentra incluida en el listado de sustancias activas del Anexo I de la Directiva 91/414/CEE con una limitación de una aplicación cada 3 años en un mismo campo.

La utilización de los nematicidas de síntesis conlleva riesgos tanto para el aplicador como para el medio ambiente que pueden y deben ser minimizados con la utilización de otros medios de control. Por su aplicación directa sobre el suelo, los nematicidas inciden directamente sobre las poblaciones microbianas pudiendo alterar el frágil equilibrio del ecosistema edáfico. La medida de parámetros microbiológicos del suelo, puede servir como indicador del efecto de las alternativas para el control de nematodos sobre la vida microbiana.

2.- OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es abordar bajo diferentes enfoques el estudio de las alternativas al uso del metam-sodio para el control del nematodo dorado (*Globodera rostochiensis* Wollenberg y *Globodera pallida* Stone) sobre un cultivo de papa mediante la **determinación de cómo afectan dichas alternativas a la vida microbiológica del suelo, y por lo tanto a la fertilidad del agrosistema.**

3.- MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo está diseñado a partir de un ensayo en fase de realización del Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural del Cabildo de Tenerife. Dicho experimento se encuentra actualmente en su segundo año de estudio. En él tratan de evaluar las alternativas al metam-sodio, valorando sólo la eficacia nematicida y los efectos sobre la producción del cultivo. Este estudio pretende complementar dicho trabajo aportando el objetivo anteriormente expuesto.

3.1.- DISEÑO DEL ENSAYO

3.1.1.- Tratamientos

Se aplicaron 7 tratamientos distintos donde estaban presentes desinfectantes y nematicidas de base química o ecológica, además de un tratamiento Testigo, con cuatro repeticiones cada uno en bloques configurados al azar. El manejo del cultivo, incluyendo los tratamientos suministrados, fue llevado a cabo por el equipo del Cabildo de Tenerife. En el momento de realizar el presente trabajo, las parcelas habían recibido por segundo año consecutivo todos los tratamientos, exceptuando el metam-sodio a dosis comercial, cuya incorporación al estudio se ha iniciado en este segundo año. Las dosis y los métodos de aplicación de cada tratamiento fueron los mismos que para el primer año de experimentación.

El diseño experimental se compuso de 8 tratamientos con 4 repeticiones en bloques al azar. Cada parcela experimental tenía una superficie de 12 m² (3 x 4 metros).

Los tratamientos aplicados en la parcela fueron **Metam-sodio, aplicado a 1/4** de la dosis indicada en la etiqueta comercial del mismo. Ésta es la dosis usada habitualmente por parte de los agricultores de la zona de Vilaflor para combatir al nematodo dorado (*Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*). También se incorporó **Metam-sodio a la dosis comercial**. Se utilizaron otros nematicidas de síntesis, como **Etoprofos** y **Oxamilo**. Además, se probaron métodos ecológicos, como el extracto de *Tagetes erecta* (**Nemagold**), **biosolarización** y **biofumigación**. Para biofumigación y biosolarización se empleó estiércol de pollo a razón de 18 Tn/ha, como recomiendan González *et al.* (1993). Para la biosolarización se usó plástico transparente de 200 galgas.

Los datos de los productos comerciales utilizados, así como sus dosis y sus materias activas fueron proporcionados por el equipo del Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural del Cabildo de Tenerife encargado de la parcela y que se exponen a continuación:

Tabla 1. Tratamientos estudiados en el ensayo.

Tratamiento	Nombre comercial	Materia activa	Dosis empleada
Metam sodio	Raisan 50	Metam-sodio 50%	250 l/ha
Metam sodio	Raisan 50	Metam-sodio 50%	1000 l/ha
Etoprofos	Mocap G	Etoprofos 10% GR	70 kg/ha
Oxamilo	Vydate 10G	Oxamilo 10% GR	55 kg/ha
Tagetes	Nemagold	Extracto <i>Tagete erecta</i> 80%	25 l/ha
Tratamiento	Metodología		Dosis
Biofumigación	Estiércol de pollo		18 Tn/ha
Biosolarización	Estiércol pollo + plástico transparente 200 galgas		18 Tn/ha

En las parcelas que se trataron con biosolarización y biofumigación se realizó un riego hasta capacidad de campo antes de la incorporación del estiércol. El estiércol se distribuyó y se incorporó al suelo de forma manual. Posteriormente, en las parcelas destinadas a biosolarización se colocó el plástico transparente de 200 galgas sellando los bordes.

La aplicación de metam-Na se efectuó a capacidad de campo con un apero arrastrado, que inyecta el producto en el suelo con una profundidad aproximada de 20 cm. Por otra parte, los nematicidas granulados, que se incorporaron al suelo con rastrillo, previamente se mezclaron con yeso agrícola para conseguir una distribución homogénea del producto en las parcelas. La aplicación con NemaGold, siguiendo las indicaciones del producto, se incorporó al suelo mediante sistema de riego. Puesto que el tamaño de las parcelas era reducido, se procedió a incorporarlo con regaderas. Se regó por aspersión hasta capacidad de campo ante de la aplicación del producto, y se realizó otro riego posteriormente para sellar el producto. Se realizaron dos aplicaciones de NemaGold durante el cultivo, a los 41 y 70 días después de la siembra con dosis de 25l/ha en cada una de las aplicaciones.

La siembra se realizó con máquina sembradora utilizando la variedad *Druid* de segunda multiplicación y tolerante a *G. rostochiensis* (BPC, 2011). Las labores culturales se llevaron a cabo siguiendo las prácticas de los agricultores de la zona de Vilaflor. No se aplicó abonado mineral en las parcelas experimentales.

3.1.2.- Características de la parcela y manejo del cultivo

La parcela del ensayo está situada en el Término Municipal de Vilaflor a una altura sobre el nivel del mar de 1300 metros. El suelo de la misma está compuesto por un enarenado de pumita volcánica, conocido como jable, siendo el mismo de naturaleza ándica. El cultivo de papa se desarrolló bajo condiciones de regadío.



Foto 1.- Parcela del ensayo.

3.1.3.- Toma de muestras

Para el muestreo se tomaron 5 submuestras/parcela en el interior del perfil de sendos hoyos realizados con azada, haciendo un rectángulo imaginario con cuatro hoyos cavados en sus esquinas y un quinto en el centro del mismo para tratar de coger una muestra representativa de las parcelas (**foto 2**). La profundidad a la cual se cavaron estos huecos fue de 25-30 cm, recogiendo la muestra a lo largo de todo este perfil con la ayuda de una pala (**foto 3**). Las tierras muestreadas, previamente homogeneizadas, se conservaron a 3°C en las instalaciones del ICIA.



Foto 2.- Distribución de los hoyos para la toma de muestras.

Para el muestreo de la parcela se trabajó en dos bloques de 16 sub-parcelas que contenían 2 repeticiones por tratamiento en cada uno de los bloques. La configuración del ensayo estaba limitada por la capacidad de trabajo y los recursos materiales del laboratorio. Teniendo esto en cuenta, se han realizado todos los análisis contando siempre con la representación de todos los tratamientos en cada bloque, para conseguir una igualdad de condiciones y lograr así una correcta obtención y posterior valoración de los datos.

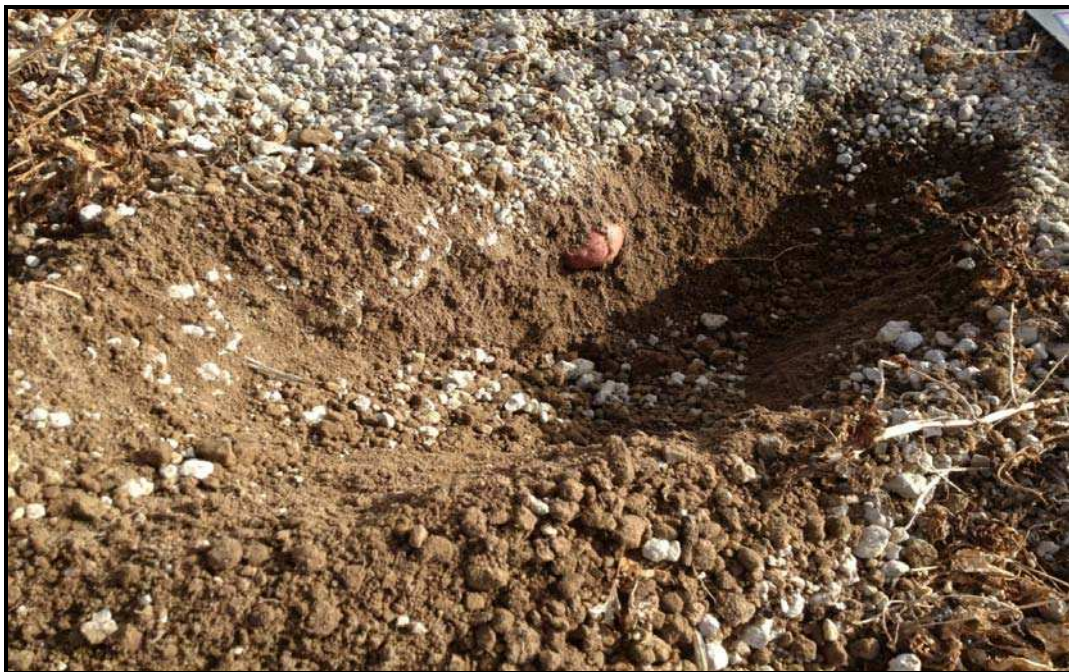


Foto 3.- Perfil de tierra de un hoyo de muestreo.

3.2.- DETERMINACIONES MICROBIANAS

Con el fin de saber cómo han repercutido sobre las poblaciones los distintos tratamientos, recurrimos a una serie de bioindicadores que nos permitirán determinar el nivel

de vida que tiene el suelo. Esto nos ayudará a comparar los efectos de los distintos tratamientos a partir de una serie limitada de variables.

A continuación (**tabla 2**) se hace un desglose de los diferentes bioindicadores a los que se recurrió en este trabajo:

Tabla 2. Descripción de los bioindicadores utilizados.

NATURALEZA	BIOINDICADOR	TIPO DE MEDIDA
Microorganismos de vida libre	Bacterias	Directa
	Hongos y levaduras	
	Actinomicetos	
	Tasa de respiración	Indirecta
	Carbono microbiano	
Microorganismos	Potencial micorrícico	Directa

3.2.1.- Microorganismos de vida libre

Para la extracción y siembra de las muestras se procedió como se explica a continuación:

- Se suspendieron 10 g de tierra de cada muestra en 90 ml de solución salina NaCl al 0,85%.
- Se agitaron las mismas en un agitador orbital durante 30 minutos a 100 revoluciones por minuto.
- Se hicieron diluciones seriadas de las muestras.
- Para la siembra, se pipetearon 100 µl de la dilución correspondiente en placa de *Petri* con el medio oportuno.
- Se realizaron 2 réplicas por dilución.

3.2.2.- Medios de cultivo

Medio de cultivo para bacterias

Para el cultivo de bacterias se utilizó Tryptona Soja Agar (TSA) (Cultimed). Se diluyeron 40 g de TSA en 1 L de agua destilada añadiendo 140 µl de fungicida Tachigaren.

Medio de cultivo para hongos

Para el cultivo de hongos se usó Agar Rosa de Bengala (DRBC) (Conda Pronadisa), a razón de 31.6 g/L. El producto tenía incorporado los bactericidas Dicloran y Cloranfenicol.

Medio de cultivo para actinomicetos

Este medio estaba compuesto de: Almidón, 10 g/L; Caseína, 10 g/L; KH_2PO_4 , 0,5 g/L y $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/L. Posteriormente se ajustó el pH del medio a 7 y se le añadió 18 g de Agar bacteriológico (tipo Eu/Am). Se calentó en agitación a 60 °C.

Todos los medios fueron autoclavados a 121 °C durante 15 minutos. Los tiempos y las temperaturas de incubación y las diluciones de siembra de cada medio de cultivo se describen en la **tabla 3**.

Tabla 3. Características de uso de los medios de cultivo

Medio de cultivo	Tiempo de incubación	Temperatura de incubación	Diluciones de siembra
TSA	48 horas	25 °C	10 ⁻⁴ y 10 ⁻⁵
DRBC	5 días	25 °C	10 ⁻² y 10 ⁻³
Almidón-Caseína	7 días	37 °C	10 ⁻³ y 10 ⁻⁴



Foto 4.- Medios de cultivo preparados para su uso.

3.2.3.- Tasa de respiración

La prueba de de la tasa de respiración del suelo consiste en medir el CO₂ atrapado en una disolución de pH básico (NaOH) en una muestra aislada, siguiendo el método descrito por Isermeyer (1952), Jäggi (1976), Aoyama y Nagumo (1997). Para ello se trabajó en bloques de 8 tratamientos, con dos repeticiones cada tratamiento. Además de los tratamientos, se añadió una muestra testigo sin suelo, también con repetición. Tras proceder a un tamizado con un tamiz de 4 mm, se pesaron todas las muestras antes de ser utilizadas para este análisis, anotando su valor y se humedecieron al 60%. Para aislar las muestras se usaron botes de cristal herméticamente cerrados. Tal y como se describe en el método mencionado, se realizó una valoración ácido-base con una bureta sobre los vasos de precipitado que contenían el NaOH, usando HCl 0,5 N. Las valoraciones ácido base se realizaron cada 24 horas durante cuatro días.



Foto 5.- Aspecto de una de las baterías de frascos utilizados para determinar la tasa de respiración

Para realizar la tasa de respiración se necesitaban muestras de tierra humedecidas al 60%. Para ello, se determinó el contenido de humedad de todas las tierras extrayendo de todas las muestras 10 g de tierra depositados en contenedores abiertos de cristal con papel de filtro, anotando el peso exacto obtenido con una balanza de precisión. Se metieron en una estufa para eliminar el contenido de humedad hasta que el peso permaneció constante. De esta forma se conoció el contenido total humedad de la tierra de las muestras, pudiéndose calcular posteriormente la cantidad de agua necesaria para humedecer las muestras de tierra al 60%.

La ecuación utilizada para la determinación de la Tasa de Respiración es la que sigue:

$$G = [(C-M) \times N \times E \times 1000] Ps$$

Donde:

G = Respiración microbiana en $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$ suelo seco.

C = Volumen (ml) de ácido (HCl) necesario para neutralizar el NaOH del testigo.

M = Cantidad de ácido necesaria para neutralizar el NaOH de la muestra.

N = Normalidad del ácido.

E = Peso equivalente =6 (peso equivalente para expresar los datos como carbono).

Ps= Peso seco en 1 g de muestra.

3.2.4.- Carbono ligado a la biomasa microbiana

Se ha seguido el método de fumigación extracción descrito por Vance *et al.* (1987 a, b y c) usando la fumigación con cloroformo para provocar la muerte de los microorganismos del suelo. Después de esto, se extrae el carbono mediante una disolución de K_2SO_4 y se realiza una oxidación con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en medio ácido. Seguidamente se realiza una valoración del exceso de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ con $(\text{NH}_4)\text{FeSO}_4$ usando fenantrolina como indicador. Se realiza el mismo proceso por cada muestra sin realizar la fumigación con cloroformo. Por cada muestra se obtienen dos réplicas fumigadas (B) y otras dos sin fumigar (A). Se obtienen dos datos por muestra. La cantidad de carbono en condiciones normales (A) y la cantidad de carbono tras

provocar la fumigación con cloroformo (*B*). Se obtienen por tanto dos datos útiles. El carbono ligado al suelo (*A*) y el que formaba parte de la fracción microbiana (*B-A*). Los resultados se expresan en gramos de carbono por kilogramo de suelo (g Kg^{-1})

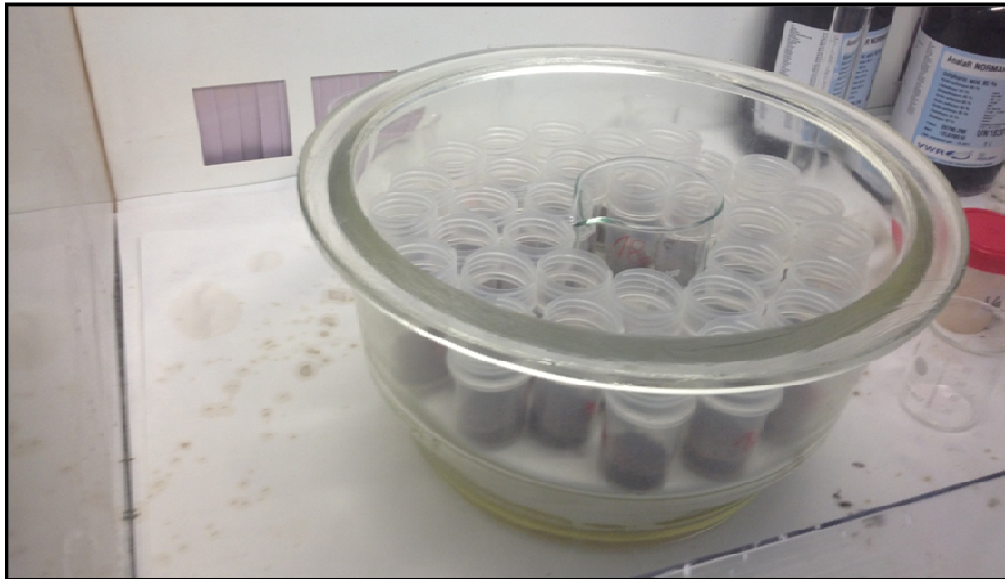


Foto 6.- Muestras en desecador antes de ser fumigadas con cloroformo.

3.2.5.- Potencial micorrícico del suelo

La determinación del potencial micorrícico del suelo se realizó mediante dos técnicas.

3.2.5.1.- Técnica del Número Más Probable (NMP)

El método de NMP (Schenck, 1982) es una técnica muy utilizada en microbiología para cuantificar los propágulos de micorrizas presente en la tierra.

El NMP es un bioensayo de diluciones seriadas del suelo a estudiar donde se siembra una especie micotrófica. Una vez desarrollada la planta, que suele ser sorgo (*Sorghum bicolor* L.), se observa al microscopio la presencia o ausencia de hongos micorrícicos que han infectado dicha raíz en cada dilución. De esta manera se puede hacer una estimación del potencial micorrícico del suelo en cuestión.

Para ello, en bandejas multipots se realizaron unas diluciones seriadas mezclando el sustrato del ensayo y picón desinfectado, previamente pasados ambos por un tamiz de 4 mm. En este caso, se ha usado 300 cm^3 de suelo para la dilución 0. Por cada dilución se han creado 5 réplicas.

En cada uno de los alvéolos se sembró una semilla de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) pregerminada (**foto 7**). Tras 2 meses de desarrollo se realizó el levante del sorgo, aislando la parte radical de cada uno para su posterior procesamiento. Las raíces se tiñen siguiendo el procedimiento descrito por Koske y Gemma (1989), blanqueándolas primero y tiñéndolas finalmente de azul trypan al 0,05%. Una vez hecho esto, las raíces fueron observadas al microscopio para determinar la presencia o ausencia de propágulos de micorrizas (Phillips y Hayman, 1970). Este dato lo calculamos usando la tabla VIII₂ de Fisher y Yates (1963) obteniéndose así un número absoluto de propágulos.



Foto 7.- Momento de la siembra en los alveolos del multipots para la técnica de NMP.



Foto 8.- Bandejas de NMP de cada parcela al principio y al final del ensayo.

3.2.5.2.- Técnica de la Planta trampa

La Planta Trampa (Oehl *et al.*, 2003) se utiliza para potenciar las poblaciones originales de hongos micorrícicos, facilitando la uniformidad de todas las muestras al desarrollarse en las mismas condiciones, y permitiendo una mejor cuantificación del número de esporas extraídas del suelo por el método de Tamizado en Húmedo (Genderman y Nicolson, 1963). Para ello se usa una maceta rellena con una mezcla a partes iguales del suelo muestreado y picón, donde dos especies micotróficas (3 semillas por especie) se siembran y cultivan. Se usó una gramínea (*Sorghum bicolor* L.) y una leguminosa (*Medicago sativa* L.) (foto 9).



Foto 9.- Macetas de Planta Trampa

3.2.6.- Extracción y cuantificación de esporas

Para la extracción y cuantificación de esporas se ha empleado el método de Tamizado en Húmedo descrito por Gendemann y Nicolson (1963). Siguiendo este método se ha sometido la muestra a una serie de tamizados en húmedo, decantado y filtrado a través de una cascada de tamices, capaces de retener las esporas de 90 μ M.

Estas esporas se adhieren finalmente a un disco de papel y se observan a la lupa para realizar el conteo de las mismas.

Los suelos de las muestras se sometieron dos veces a este análisis: la primera vez en fase de suelo original y la segunda después del forzado de la Planta Trampa.

3.3.- DETERMINACIONES FÍSICO-QUÍMICAS

Los **análisis físico/químico** de los suelos de las muestras fueron realizados por el Laboratorio Agrario del ICIA. El **análisis de estiércol de pollo** fue realizado por Canarias Explosivos S.A. Los resultados de estos análisis se detallan en el apartado de apéndices.

3.4.- SOFTWARE Y MÉTODOS ESTADÍSTICO

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante ANOVA con el software IBM® SPSS® Statistics (Version 19).

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- BIOINDICADORES MICROBIOLÓGICOS

4.1.1.- Microorganismos de vida libre

Las **bacterias aerobias** del suelo del tratamiento biofumigación presentó los valores más altos, siendo significativa la diferencia con el testigo y el resto de suelos tratados con productos de síntesis (Etoprofos, metam-Na diluido, metam-Na comercial y Oxamilo). Los suelos de los tratamientos biosolarización y NemaGold registraron también un número superior de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), aunque no presentaron diferencias significativas con el resto de los suelos de los distintos tratamientos (**tabla 4**). En cuanto a **hongos y levaduras**, la biosolarización se diferenció del resto de tratamientos con un menor número de UFC siendo este valor estadísticamente significativo (**foto 10**). Por otra parte, los valores registrados en las poblaciones de **actinomicetos** de los suelos de los diferentes tratamientos fueron estadísticamente idénticos (**foto 11**).

Tabla 4. Poblaciones microbianas de los diferentes tratamientos. Unidad Log UFC/100g

Tratamientos	Bacterias	Hongos y levaduras	Actinomicetos
Biofumigación	7,4 a*	5,15 a	6,49 a
Biosolarización	7,16 ab	4,89 b	6,57 a
NemaGold	7,11 ab	5,17 a	6,35 a
Etoprofos	7,09 b	5,17 a	6,41 a
Metam-Na com.	7,08 b	5,29 a	6,41 a
Metam-Na dil.	7,03 b	5,13 a	6,34 a
Testigo	7 b	5,17 a	6,34 a
Oxamilo	6,99 b	5,12 a	6,41 a
Probabilidad	0,006	0,045	0,584

*Valores de una columna seguidos de una misma letra no tienen diferencias significativas entre sí, según Test de rango múltiple de Tukey ($P \leq 0,05$).

La aplicación reiterada de productos para el control de nematodos ha puesto de manifiesto, la capacidad adaptativa de la flora microbiana del suelo (Karpouzas *et al.*, 1999; Deliopoulos y Walker, 2000; Haydock *et al.*, 2012; Triki-Dotan *et al.*, 2010; Meszca *et al.*, 2011). Se han detectado poblaciones especializadas en la degradación de las sustancias activas utilizadas, que disminuyen la eficacia de las mismas. Este fenómeno adaptativo podría explicar la ausencia de diferencias entre los tratamientos químicos y no químicos de este ensayo. A esto hay que añadir, el hecho de que la medida directa de las poblaciones microbianas se ha efectuado cuantitativamente. En ocasiones los recuentos en placa de Petri, no ofrecen diferencias, mientras que la distribución de los grupos microbianos si varía. Meszca *et al.* (2011), encontraron incrementos significativos de grupos bacterianos que degradaban metam-Na, al tiempo que disminuía el número de especies del género *Bacillus*.



Foto 10. Crecimiento de hongos y levaduras a partir de muestras de los diferentes tratamientos.



Foto 11. Crecimiento de colonias de actinomicetos a partir de muestras diferentes tratamientos.

4.1.2.- Tasa de respiración y carbono de la biomasa microbiana

Con respecto a la respiración microbiana, todos los suelos tratados registran una misma tendencia a lo largo del tiempo de estudio no existiendo diferencias significativas entre ellos en ninguno de los tiempos estudiados, con independencia de la naturaleza del tratamiento (**figuras 1 y 2**).

En la **figura 1** se observa que a partir de las 48 horas, metam-Na diluido es el tratamiento que registra una Tasa de respiración más baja y que la biofumigación es el tratamiento que tuvo mayor tasa de respiración, y además ésta fue más uniforme con respecto a los demás tratamientos. Puede apreciarse que los tratamientos biofumigación y Nemagold, fueron los que registraron una tasa de respiración más alta tras 96 horas.

Si analizamos los datos en función de la caída de la respiración entre días consecutivos (**figura 2**) se aprecia como los tratamientos metam-Na comercial y

biofumigación fueron los que registraron una caída más brusca en la tasa de respiración de las primeras 72 horas. Nemagold registro una caída proporcional. Etoprofos y metam-Na diluido registraron también una caída proporcional, pero sólo en las primeras 72 horas.

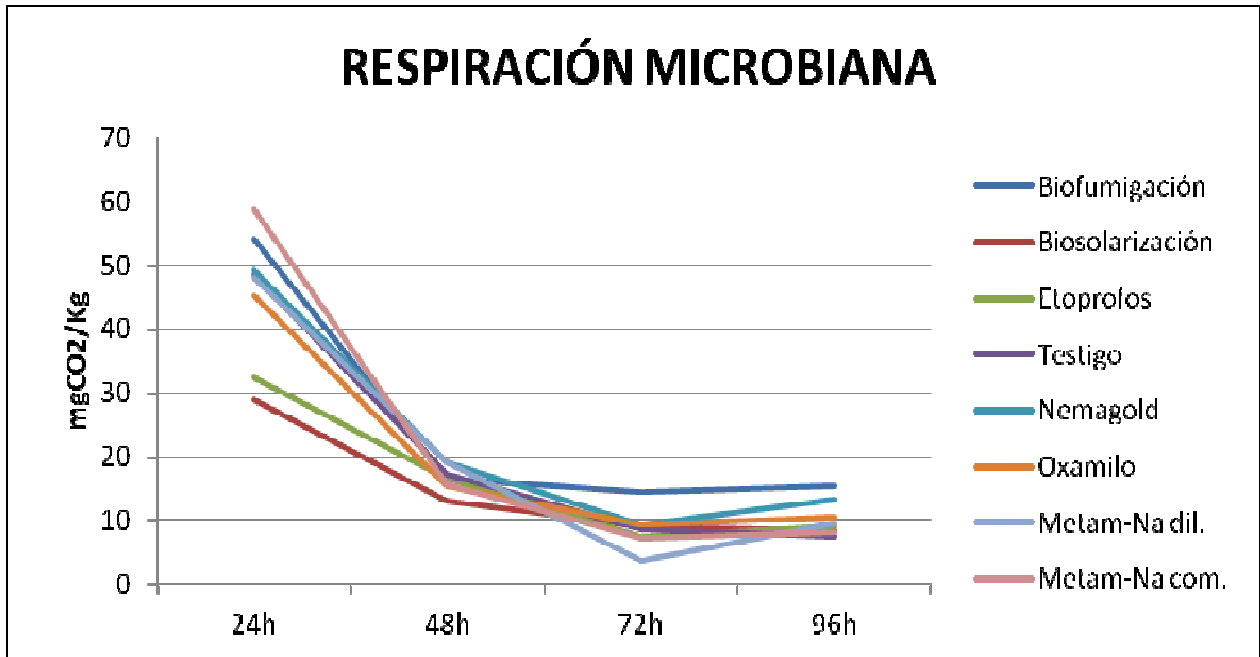


Figura 1. Evolución de la respiración microbiana durante 4 días.

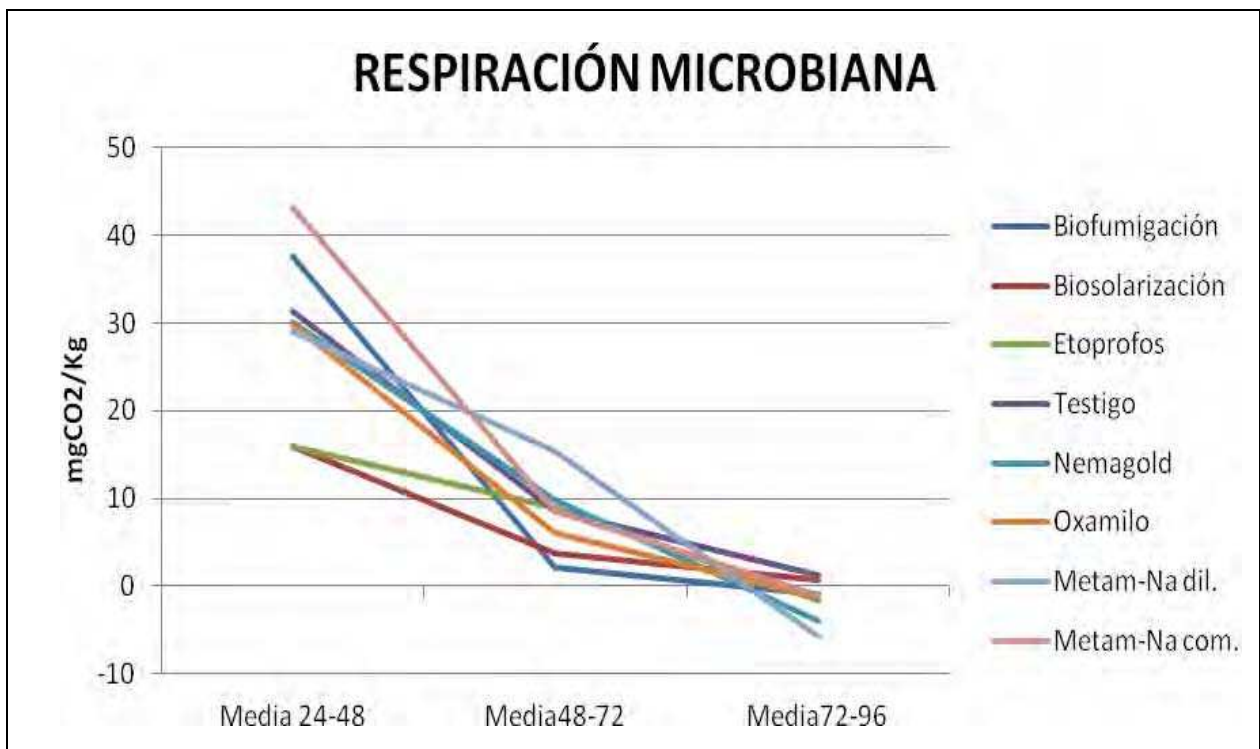


Figura 2. Caída de la tasa de respiración cada 24 horas.

Sería interesante repetir el mismo proceso en ensayos futuros haciendo un seguimiento del suelo entre las fechas anteriores a la aplicación de los tratamientos y semanas posteriores del mismo, con el fin de registrar la disminución o incremento de la tasa de respiración ligada directamente a los tratamientos objetos de estudio.

En cuanto al carbono de la biomasa microbiana, los suelos tratados con Oxamilo registraron valores significativamente superiores del resto, excepto del suelo de NemaGold. Los suelos de los tratamientos NemaGold, metam-Na diluido, metam-Na comercial, biofumigación, biosolarización y testigo tuvieron una tasa de Carbono Microbiano similar. Con este dato se puede suponer que los tratamientos Oxamilo y NemaGold promovieron la vida microbiana de sus respectivos suelos.

Tabla 5. Carbono microbiano ligado a la biomasa de los suelos de cada tratamiento (g Kg⁻¹)

Tratamiento	C.microbiano
Oxamilo	674,60 a*
NemaGold	606,81 ab
Metam-Na dil.	454,81 bc
Metam-Na com.	448,5 bc
Biofumigación	398,92 bc
Biosolarización	398,60 bc
Testigo	390,81 bc
Etoprofos	345,42 c
Probabilidad	0,000

*Valores con misma letra no presentan diferencias significativas según el Test de rango múltiple de Tukey (P≤0,05).

La tasa de respiración microbiana al igual que el carbono ligado a la biomasa microbiana, constituyen dos herramientas de medida indirecta de la actividad y vida microscópica del suelo (García *et al.*, 2003). Cualquiera de las dos consigue obviar la limitación de otras variables, como los recuentos microbianos en placa de Petri, en donde sólo es posible detectar la fracción microbiana cultivable en medio artificial (Ben Sassi *et al.*, 2012). En este ensayo, sin embargo, los valores de la tasa de respiración microbiana, no esclarecen lo ocurrido en el suelo tras el tratamiento aplicado. Sin embargo, la medida del carbono ligado a la biomasa microbiana sí refleja el efecto de algún tratamiento (Oxamilo). Esto sigue siendo coherente con la aparición de cepas microbianas especializadas en la degradación de pesticidas, implicando un incremento en la actividad microbiana (Meszca *et al.*, 2011).

La complejidad del sistema edáfico y sus interacciones, junto con la dificultad de parametrizar muchos de los fenómenos que allí ocurren, hace que el uso de estas variables no siempre ofrezca resultados unívocos. Por eso, son varios los trabajos enfocados a lograr mejoras en las técnicas de detección que permitan optimizar el uso de ambas como bioindicadores (Ben Sassi *et al.*, 2012; Giovannini *et al.*, 2013; Prasad *et al.*, 2013).

4.1.3.- Microorganismos simbiotes

Respecto a la cuantificación del número de esporas de hongos micorrízicos-arbusculares, todos los suelos estudiados presentan un número de esporas relativamente bajo con independencia del tratamiento recibido, con datos que oscilan entre 20-155 esporas/100 g antes del forzado y 20-100 esporas/100 g después del mismo (**tabla 6 y figura 3**). Estos valores son frecuentes en suelos de origen agrícola donde las prácticas culturales actúan como inhibidoras del desarrollo de la simbiosis (González Díaz, 2010).

Tabla 6. Variables relativas a los hongos formadores de micorrizas arbusculares: Número de propágulos, número de esporas en suelo original y número de esporas en suelo tras cultivo bajo planta trampa

Tratamientos	Esporas/100 g	Esporas/100 g (Planta Trampa)	Nº Propágulos/ml
Testigo	65 ab	100 a	>30
Nemagold	80 ab	95 a	>5
Biofumigación	35 b	20 c	<1
Biosolarización	155 a	75 ab	<1
Etoprofos	65 ab	65 ab	<1
Oxamilo	20 b	50 bc	<1
Metam-Na dil.	30 b	45 bc	<1
Metam-Na com.	30 b	20 c	<1
<i>Probabilidad</i>	<i>P=0,000</i>	<i>P= 0,000</i>	

Valores de la misma columna con misma letra no presentan diferencias significativas según el Test de rango múltiple de Tukey ($P \leq 0,05$)

Es destacable el alto número de esporas que exhibe el tratamiento **biosolarización** (155/100 g), si bien este número fue reducido en más de un 50% después de la técnica de la Planta Trampa (**tabla 6 y figura 3**). Esto podría presuponer una mayor actividad biológica en los suelos desinfectados mediante esta técnica ecológica con respecto a los restantes métodos, y con respecto al suelo usado como Testigo (65 esporas/100 g). La drástica reducción en el número de esporas mostrada por este tratamiento después de la Planta Trampa, puede ser atribuida a una presión de selección de las plantas utilizadas con capacidad micotrófica multiplicadora (Oehl *et al.*, 2003).

El incremento registrado por las poblaciones de los suelos testigo después del forzado con la Planta Trampa, hace suponer que un manejo del suelo original, basado en la siembra de cultivos capaces de desarrollar micorrizas podrían incrementar las poblaciones de hongos MA nativos, si bien este incremento, partiendo de valores iniciales inferiores, también se produjo en las muestras de suelos tratados con **oxamilo** y **metam-Na diluido**.

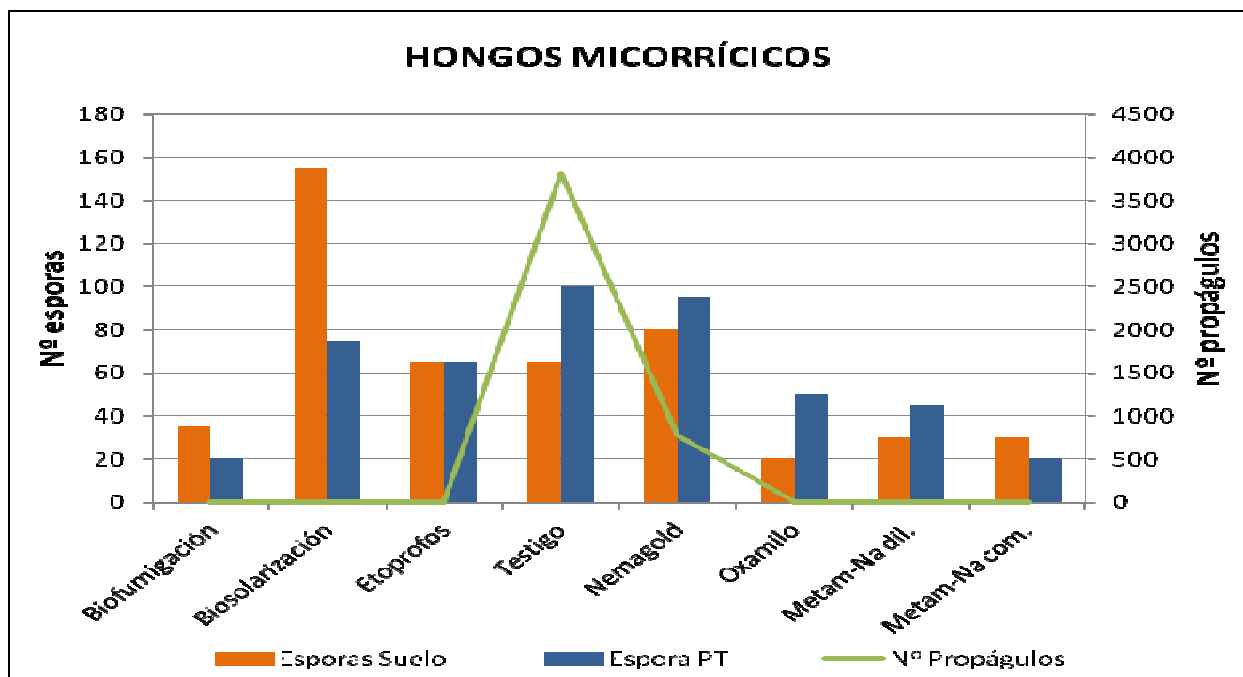


Figura 3. Efecto de los diferentes tratamientos sobre el potencial micorrícico del suelo valorado como nº esporas de suelo y Planta Trampa, y nº de propágulos de hongos MA.

Con respecto al número de propágulos (**tabla 6 y figura 3**), son los suelos **testigo** y con tratamiento de **Nemagold** los únicos que contienen esporas, hifas o trozos de raicillas que confirman la presencia de la simbiosis. Es el suelo Testigo el que muestra el mayor potencial micorrícico con unos valores (40 propágulos/g) que se pueden considerar óptimos para un suelo agrícola. Esto puede explicarse a que son los únicos tratamientos que no han sido tratados con estiércol (que aporta P al suelo) ni han sufrido intervención química.

Los exudados de las raíces de papas micorrizadas son más ricos en sustancias promotoras de la eclosión de los huevos de *Globodera* spp. Los juveniles en su acceso a la raíz se encuentran con las estructuras del hongo micorrícico, que les dificulta su objetivo. Si además la variedad plantada es resistente al nematodo, la probabilidad de completar el ciclo se reduce aún más (Deliopoulos *et al.*, 2010).

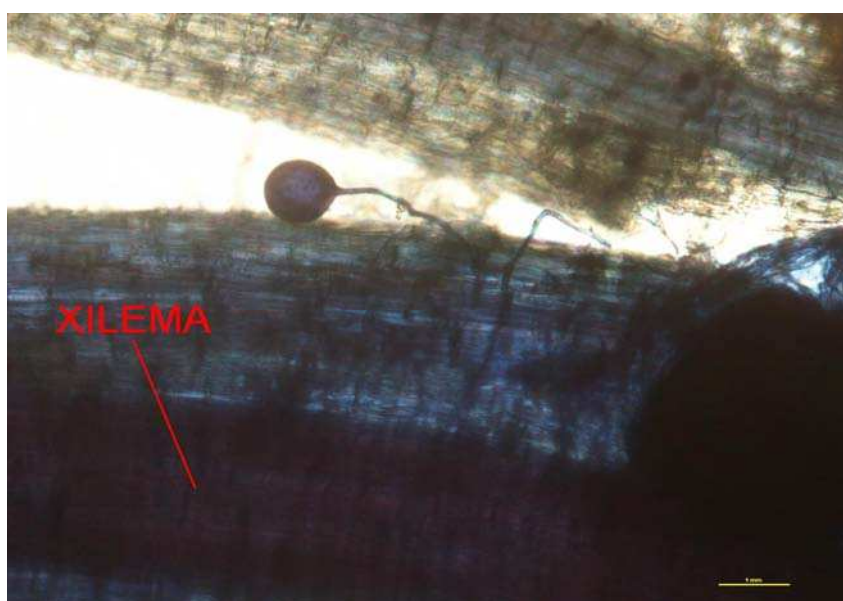


Foto 12. Raíz de tratamiento Testigo colonizada por MA



Foto 13. Raíz de tratamiento Testigo colonizada por MA

5.- CONCLUSIONES

- En relación a las bacterias aerobias, el suelo tratado con biofumigación obtuvo el valor más alto con diferencias significativas respecto a los suelos tratados con productos de síntesis.
- El suelo tratado con biosolarización registró el valor más bajo en cuanto a poblaciones de hongos y levaduras no existiendo diferencias significativas entre el resto de los tratamientos.
- Con respecto a las poblaciones de actinomicetos no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.
- En la determinación de la tasa de respiración del suelo no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.
- Los mayores potenciales micorrícicos fueron obtenidos por los tratamientos testigo y NemaGold con un elevado número de propágulos, evidenciando la existencia de simbiosis, así como un alto número de esporas de hongos micorrícicos-arbusculares en el suelo original y después del forzado con la planta trampa.
- Deben tenerse en cuenta para estudios futuros el análisis cualitativo de las poblaciones microbianas analizadas para una mejor comprensión de los resultados obtenidos así como un estudio de la viabilidad de las esporas obtenidas de hongos MA.

6.- AGRADECIMIENTOS

Los autores queremos agradecer al propietario de la parcela Miguel Angel Delgado Dorta por permitirnos realizar este ensayo en su propiedad. A los Agentes de Extensión Agraria, Luisa Trujillo García, Catalina Tascón Rodríguez y Carlos Díaz González, así como a Beatriz Cruz Crespo y José María Hernández González por el apoyo en la realización de la aplicación de los tratamientos en campo y seguimiento de la parcela.

7.- BIBLIOGRAFÍA

- AOYAMA, M. y T. NAGUMO. 1997. *Comparison of the effects of Cu, Pb, and As on plant residue decomposition, microbial biomass, and soil respiration*. Soil Science and Plant Nutrition, 43: 613-622.
- BEN-SASSI, M.; J. DOLLINGER; P. RENAULT; A. TILI y A. BÉRARD. 2012. The FungiResp method: An application of the MicroResp™ method to assess fungi in microbial communities as soil biological indicators. Ecological Indicators, 23: 482-490.
- FISHER, R.A. y F. YATES. 1963. *Statistical table for biological, agriculture and medical research*. Ed. Oliver and Boyd. Edinburg. 146 p.
- GARCÍA, C.; F. GIL-SOTRES; T. HERNÁNDEZ y C. TRASAR-CEPEDA. 2003. *Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana*. Mundi-Prensa. Madrid. 371 p.
- GERDEMANN, J.W. y T.H. NICOLSON. 1963. *Spores of mycorrhizal Endogone extracted from soil by wet sieving and decanting*. Transactions of the British Mycological Society, 46: 235-244.
- GIOVANNINI, C.; J.M. GARCÍA-MINA; C. CLAVATTA y C. MARZADORI. 2013. *Effect of organic-complexed superphosphates on microbial biomass and microbial activity of soil*. Biology and fertility of Soils, 49: 395-401.
- GONZÁLEZ DÍAZ, A.J.; 2010. [Valoración agronómica del compost y del té de compost a partir de restos vegetales y arribazones marinos](#). Trabajo Fin de Carrera. Directores: M.C. JAIZME-VEGA; T.R. ALCOVERRO PEDROLA e I. RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Universidad de La Laguna.
- GONZÁLEZ, A.; M. CANTOS-SÁENZ. 1993. *Comparación de cinco enmiendas en el control de Globodera pallida en microparcels en Perú*. Nematológica, 23: 133-139.
- HAYDOCK, P.P.J.; E.L. AMBROSE; A. WILCOX y T. DELIOPOULOS. 2012. *Degradation of the nematicide oxamyl under fields and laboratory conditions*. Nematology, 14(3): 339-352.
- ISERMEYER, H. 1952. *Estimation of soil respiration in closed jars*. En: ALEF, K. y P. Nannipieri (eds.) Method in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, London. Pp. 214–216.
- JÄGGI, W. 1976. *Die Bestimmung der CO₂ - Bildung als Mass der bodenbiologischen Aktivität*. Recherche Agronomique en Suisse, 15: 371-380.

- KARPOUZAS, D.G.; A. WALKER; R.J. FROUD-WILLIAMS y D.S.H. DRENNAN. 1999b. *Evidence for the enhanced degradation of ethoprophos and carbofuran in soils from Greece and the stability of the phenomenon in previously treated soils*. Pesticide Science, 55: 301-311.
- KARPOUZAS, D.G. y A. WALKER. 2000. Aspects of the enhanced biodegradation and metabolism of ethoprophos in soil. Pest Management Science, 56: 540-548.
- KOSKE R.E. y J.H. GEMMA. 1989. *A modified procedure for staining root to detect VA mycorrhizas*. Mycological Research, 92: 486-505.
- MESZCA, B; A. CHAŁAŃSKA; H. SOBICZEWSKI; E. MALUSÁ y CZ. ŚLUSARSKI. 2011. *Changes in microorganism population in the soil after fumigation*. Communications in agricultural and applied biological sciences, 76(4):751-5.
- OEHL F.; J. JANSÁ; K. INEICHEN; P. MADER y M. VAN DER HEIJDEN. 2011. *Arbuscular mycorrhizal fungi as bioindicators in Swiss agricultural soils*. Agrarforschung Schweiz, 2: 304-311.
- OEHL F.; J. JANSÁ; K. INEICHEN; P. MADER y M. VAN DER HEIJDEN. 2011. *Arbuscular mycorrhizal fungi as bioindicators in Swiss agricultural soils*. Agrarforschung Schweiz, 2: 304-311.
- PHILLIPS J.M. y D.S. HAYMAN. 1970. *Improve procedures for cleaning roots and stain parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection*. Transactions of the British Mycological Society, 55:158-161.
- PRASAD, P.J. GEORGE; R.E. MASTO; T.K. ROUT; L.C. RAM y V.A. SELVI. 2013. *Evaluation of Microbial Biomass and Activity in Different Soils Exposed to Increasing Level of Arsenic Pollution: A Laboratory Study*. Soil and Sediment Contamination, 22: 483-497.
- SCHENK, N.C. 1982. *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 244 p.
- TRIKY-DOTAN, S.; M. OFEK; M. AUSTERWEIL; B. STEINER; D. MINZ; J. KATAN y A. GAMLIEL. 2010. *Microbial aspects of accelerated degradation of metam sodium in soil*. Phytopathology, 100(4):367-75.
- VANCE, E.D.; P.C. BROOKES y D.S. JENKINSON. 1987a. Microbial biomass measurements in forest soils: Determination of Kc values and tests of hypotheses to explain the failure of the chloroform fumigation incubation method in acid soils. Soil Biology and Biochemistry, 19: 689-696.
- VANCE, E.D.; P.C. BROOKES y D.S. JENKINSON. 1987b. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry, 19: 703-707.
- VANCE, E.D.; P.C. BROOKES y D.S. JENKINSON. 1987c. *Microbial biomass measurements in forest soils: the use of the chloroform fumigation-incubation method in strongly acid soils*. Soil Biology and Biochemistry, 19:691-702.

8.- APENDICES

1. Análisis físico/químico de los suelos.

Tabla 7. Análisis físico/químico de los suelos de todos los tratamientos antes del cultivo.

Tratamiento	MO	P	Na	K	Ca	Mg	pH	CE	SAT
Biofumigación	5,6	179	3,2	6,4	13	3,5	6,5	2,9	64,8
Biosolarización	4,9	150	3,1	4,7	12,4	3,1	6,9	2,3	65,2
Etoprofos	4,7	115	3,2	4,7	16,5	2,6	6,7	3,3	63,4
Testigo	4,6	103	3,2	5,5	12,8	2,8	6,8	2,6	62,9
Nemagold	4,6	107	3,4	6,2	13,6	2,8	6,9	2,4	61,8
Oxamilo	4,8	112	3,2	5,8	14,7	3	7	3,3	62,1
Metam dil	4,5	104	3,4	5,6	12,9	2,9	6,9	2,7	62,5

Tabla 8. Análisis físico/químico de los suelos de todos los tratamientos tras el cultivo.

Tratamiento	MO	P	Na	K	Ca	Mg	pH	CE	SAT
Biofumigación	6,2	248	4,6	7,1	12,6	3,4	7,1	1,51	56
Biosolarización	6	188	4,2	5,9	11,9	3,1	6,8	1,13	59,3
Etoprofos	4,9	112	3,8	5,2	12,8	1,8	7,1	2,48	57,3
Testigo	4,7	136	4,2	5,7	11,1	2,9	7,1	1,37	58
Nemagold	4,8	136	5,9	7,6	11,9	3,1	7,7	1,26	56,7
Oxamilo	4,4	144	4,7	6,5	12,5	2,7	7,2	1,7	60
Metam dil	4,7	136	4,8	6,1	12	3	7,4	1,15	61,3
Metam com	4,6	196	6,3	8,1	12,9	3,3	8	1,25	59,3

2. Análisis físico/químico del estiércol de pollo

Estos análisis han sido realizados por Canarias Explosivos S.A. Para las determinaciones de materia orgánica por calcinación, pH 1:25, humedad, fósforo total y nitrógeno total se han seguido los métodos oficiales del Ministerio de Agricultura. La conductividad eléctrica se refiere al extracto 1:5 v/v. Los cationes (totales) son los solubles en ácido sulfúrico+nítrico.

Tabla 9. Análisis del estiércol de pollo

pH	CE	%Humedad	%MO	%Nitrógeno	C/N
p/v	v/v mS/cm	pérdida a 105 °C		Kjeldahl	
8,6	4,6	15	41,2	2,65	9

C	Mg	K	P
%	%	%	%
0,76	0,39	3,13	1,29



SERVICIO TÉCNICO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL
Área de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas

Oficinas de Extensión Agraria y Desarrollo Rural

Oficina	Dirección	Teléfono	E-mail
S/C de Tenerife	Alcalde Mandillo Tejera, 8	922 239 931	servicioagr@tenerife.es
La Laguna	Plaza del Adelantado, 11 Aptos Hotel Nivaria-Bajo	922 257 153	agextagrlaguna@tenerife.es
Tejina	Palermo, 2	922 546 311	agextagrtejina@tenerife.es
Tacoronte	Ctra.Tacoronte-Tejina, 15	922 573 310	agextagrtacoronte@tenerife.es
La Orotava	Plz. de la Constitución, 4	922 328 009	agextagrrotava@tenerife.es
Icod	Key Muñoz, 5	922 815 700	agextagricod@tenerife.es
S.J. de la Rambla	Avda. 19 de marzo, San José	922 360 721	agextagricod@tenerife.es
El Tanque	Pedro Pérez González, s/n	922 136 318	agextagricod@tenerife.es
Buenavista	El Horno, 1	922 129 000	agextagr Buenavista@tenerife.es
Guía de Isora	Avda.Constitución s/n	922 850 877	agextagr guiaisora@tenerife.es
V.San Lorenzo	Ctra. General, 122	922 767 001	agextagr vslorenzo@tenerife.es
Granadilla	San Antonio, 13	922 774 400	agextagr granadilla@tenerife.es
Vilaflor	Avda. Hermano Pedro, 22	922 709 097	agextagr granadilla@tenerife.es
Arico	Benítez de Lugo, 1	922 161 390	agextagr arico@tenerife.es
Fasnia	Ctra. Los Roques, 21	922 530 900	agextagr fasnia@tenerife.es
Güímar	Plaza del Ayuntamiento, 8	922 514 500	agextagr guimar@tenerife.es
C.C.B.A.T.	Ctra.Tacoronte-Tejina, 20A	922 573 110	ccbiodiversidad@tenerife.es

Síguenos en:

www.agrocabildo.com



YouTube

flickr

