# A. García-Ruiz, D. Palmero, D.L. Valera, M. De Cara, C.A. Ruíz, A. Boix y F. Camacho

# CONTROL DE LA *FUSARIOSIS* VASCULAR EN CLAVEL EN EL SUROESTE DE ESPAÑA MEDIANTE LA BIODESINFECCIÓN DEL SUELO

# Control de la *Fusariosis* vascular en clavel en el suroeste de España mediante la biodesinfección del suelo

A. García-Ruiz\*, D. Palmero\*\*, D.L. Valera\*\*\*, M. De Cara\*\*\*, C.A. Ruíz\*\*\*, A. Boix\*\*\* y F. Camacho\*\*\*

- \* IFAPA. Chipiona Camino de Esparragosa s/n. 11550. Cádiz. España
- \*\* EUIT Agrícola. Universidad Politécnica de Madrid. 28040. Madrid. España
- \*\*\* Universidad de Almería. Cañada de San Urbano s/n. 04120 Almería. España

#### Resumen

El presente trabajo presenta una evaluación de las alternativas no químicas al 1,3 dicloropropeno + cloropicrina (AGROC) usado para el control de la fusariosis vascular en clavel en campos experimentales del suroeste de España. Esta enfermedad ha sido un factor limitante en todas las regiones del mediterráneo para poder mantener el cultivo durante 2 años. Tiempo éste necesario para obtener un rendimiento económico aceptable. La desinfección del suelo está basada en el compostado de la materia orgánica, que combinada o no con la solarización, es agrupada bajo la denominación de biodesinfección. Los tratamientos evaluados fueron: compost de alperujo con o sin solarización (31días), compost de residuos post-cosecha de clavel y crisantemo con y sin solarización, compost de residuos post-cosecha de clavel y crisantemo + gallinaza con y sin solarización.

La gravedad de la enfermedad y la producción de flores se evaluaron semanalmente durante los 2 años que duró el experimento. Los resultados mostraron que la biodesinfección del suelo utilizando compost de clavel y crisantemo + gallinaza + solarización confiere una aceptable protección contra la fusariosis vascular durante los 2 años que dura el cultivo. La producción fue significativamente mayor que en cualquier otro de los tratamientos. Los resultados además sugieren que la adición de la gallinaza y el uso del polietileno estándar de alta densidad (HDPE) de forma conjunta fueron el factor clave en el éxito de la desinfección. No hubo efecto de la solarización sola, posiblemente debido a la época en la cual se aplicó.

Palabras clave: Fusarium oxysporum f. sp. dianthi, biofumigación, miniclavel.

#### Abstract

## Control of Fusarium vascular wilt on carnation using soil bio-disinfection in south west of Spain

Non-chemical alternatives to 1,3 dicloropropene + chloropicrine (AGROC) used for the control of *Fusarium* wilt of carnation were evaluated in field experiments. This disease is a limiting factor for carnation cultivation for two consecutive years in all the Mediterranean regions. This period is needed for an acceptable yield. Soil disinfection is based on composted organic matter combined or not with solarization and grouped under the denomination of biodisinfection: Several organic materials were tested: compost of alperujo with and without solarization (31 days), post-harvest residues of compost of carnation and chrysanthemum post-harvest residues with and without solarization, compost of carnation and chrysanthemum post-harvest residues + hen manure with and without solarization.

The severity of the disease and flower production was weekly evaluated during the two years that lasted the experiment. Experimental results showed that soil biodisinfection using compost of carnation and

<sup>1.</sup> Autor para correspondencia: daniel.palmero@upm.es

chrysanthemum + hen manure + solarization confers a suitable protection against the Fusarium vascular wilt during two years. Production was significantly higher than with any of the disinfection treatments tested. Results also suggest that the combination of hen manure and standard high-density polyethylene film (HDPE) was the key factor to the success of the disinfection. There was no effect of solarization alone, possibly linked to the season of application.

**Key words:** Fusarium oxysporum f sp dianthi, biofumigation, mini-carnation.

#### Introducción

El área más importante de producción de clavel en España se localiza en las provincias de Cádiz y Sevilla (sur de España). 297 ha de un total de 744 en todo el país producen alrededor de 46566 miles de docenas de flores por año (el 42% de la producción total). Las flores de crisantemo y lirio también son producidas en este mismo área de la costa del noreste de Cádiz (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2010). La producción de flor cortada supone una cantidad anual superior a los 200 millones de euros, y da empleo a unas 6.000 personas. El uso de fumigantes químicos para la desinfección del suelo es una práctica ampliamente utilizada en los cultivos para flor cortada.

Investigaciones desarrolladas desde 2004 hasta el 2007 en 247 invernaderos de producción de clavel (34 ha encuestadas sobre un total de 553 ha de flor cortada en las provincias de Cádiz y Sevilla), revelaron que la marchitez ocasionada por la fusariosis vascular estaba presente (García-Ruíz et al., 2009). La misma enfermedad se había citado anteriormente como un factor limitante en otras áreas de producción como Reino Unido (English, 1974), EEUU (Baker, 1980), Francia (Tramier, 1986), Italia (Garibaldi y Gullino, 1987), Holanda (Bayeen, 1988), Murcia (Tello y Lacasa, 1990), Galicia (Andrés-Ares, 1995) o Colombia (Pizano, 2000).

Las dificultades para un control efectivo de la marchitez producida por *Fusarium* han ido en aumento debido a la prohibición de uso del bromuro de metilo como fumigante del suelo. Este trabajo muestra los resultados del ensayo de alternativas para el 1,3 dicloropropeno + cloropicrina utilizado en cultivos de clavel bajo invernadero y da información útil para otros países productores de clavel en el área mediterránea. Nos referiremos a tratamientos como los de biodesinfección (Alabouvette et al. 2009; Bello et al. 1999 y Diez Rojo, 2010). El término biodesinfección se refiere al uso de diversos tipos de materias orgánicas (restos de cosecha, estiércoles poco hechos y otros residuos vegetales) que al descomponerse en el suelo húmedo liberan moléculas tóxicas para artrópodos, nematodos, hongos, bacterias, virus. Las mencionadas moléculas pueden ejercer un doble efecto, por un lado sobre los microorganismos patógenos y por otro favoreciendo poblaciones microbianas antagonistas.

Dentro de ese concepto de biodensinfección, dos técnicas han sido desarrolladas, por una parte la biofumigación y por otra la biosolarización. Se diferencian en la aplicación de solarización. Es decir, mientras que en la biofumigación se produce el compostado de la materia orgánica poco descompuesta enterrada en presencia de humedad permanente a capacidad de campo, en la biosolarización dicho compostado se acompaña de 4 semanas de solarización. Bien es cierto que existen variantes. Así, en ausencia de fuerte radiación solar, el suelo se ha cubierto de plástico (transparente u opaco), o se ha acolchado con restos vegetales y el efecto ha sido equiparable al de una biosolarización, en la cual, como se sabe, se suma el efecto desinfectante de la solarización.

El trabajo tuvo una motivación esencial: buscar sustitución a los fumigantes químicos del suelo mediante el uso de la biosolarizción utilizando para ello residuos del propio cultivo. El bromuro de metilo, usado en la zona de manera generalizada fue prohibido en el año 2005. El 1,3 dicloropropeno (DD) y la cloropicrina estaban en revisión en la Unión Europea, con resultados previos de supresión del 1,3 dicloropropeno y consiguientes moratorias hasta la actualidad. Ante esta situación parecía oportuno aprovechar las materias orgánicas de fácil acceso, comenzando por los propios restos de cosecha, fuente de inóculo primario de la fusariosis vascular, además de erigirse en un factor estético negativo en los entornos de las explotaciones agrarias.

# Materiales y métodos

# Diseño experimental

Las pruebas se desarrollaron en un invernadero de 600 m<sup>2</sup> con cubierta de polietileno transparente de 0,2 mm de grosor (800 galgas). El clavel (Dianthus caryophillus) fue cultivado durante los últimos 8 años en el mismo invernadero en monocultivo con una incidencia de fusariosis vascular en el último año de cultivo (2003/2004) de un 30% de plantas muertas. Los ensayos duraron 2 años. Al final del primero las plantas fueron cortadas para permitir el rebrote durante el segundo. La cosecha total se obtiene como suma de los dos años (40% y 60% de la producción final, respectivamente). El manejo cultural fue el habitual de un cultivo comercial de clavel en el área. Los tratamientos de desinfección empezaron el 10 de mayo y terminaron el 10 de junio. El trasplante se hizo en junio del 2004. Las plantas se podaron en junio del 2005, y finalmente arrancadas en junio del 2006.

Se utilizó un diseño de bloques aleatorios, con 4 repeticiones por tratamiento, de esta manera, 108 plantas de clavel (cv. "Medea", susceptible a todos los patotipos de *Fusarium* oxysporum f. sp. dianthi (Fod)) fueron cultivadas en cada parcela experimental (1,7 x 4 m).

Una vez que se preparó el suelo y antes de cualquier tratamiento de fumigación se inoculó el patógeno (Fod raza 2). El aislado inoculado se obtuvo en 2003 de plantas enfermas cv. "Medea" del mismo invernadero y de otros, seleccionados en un bioensayo donde una gran cantidad de aislados fueron obtenidos. Aislados monoconídicos se multiplicaron en 15 ml de medio agarizado estéril (agar, 10 g; extracto de malta, 10g; 1-asparagina, 2g; fertilizante (Peter's Foliar Feed 27-15-12), 0,5g; agua destilada, 1.000 ml) antes de inocularlos. Cuando las colonias llenaron la placa Petri de 9 cm de diámetro, se trituraron en 1.000 ml de agua estéril (10³ UFC•ml-¹).

La suspensión del inóculo se aportó, uniformemente, a cada parcela (1.520 ml) y el suelo se labró superficialmente para incorporar el inóculo. Después de la inoculación, la aplicación de los tratamientos se realizó en todas las parcelas elementales respetando una zanja en todo el perímetro de 25 cm de profundidad para evitar cualquier deriva entre los tratamientos.

Para alcanzar el objetivo básico del trabajo, se valoró la enfermedad en el campo examinando el xilema de las plantas que mostraban síntomas de marchitez o amarilleamiento. El procedimiento era cortar uno de los brotes de la planta enferma y confirmar la necrosis vascular con análisis micológicos de plantas tomadas al azar en el laboratorio. Por otro lado se estimó que la evaluación de la producción de flores era un parámetro esencial para establecer una relación entre el porcentaje de plantas muertas y/o enfermas y la producción final.

# Tratamientos desinfectantes

Los tratamientos evaluados como alternativas no químicas al 1,3 dicloropropeno + clo-

ropicrina fueron: compost de alperujo con o sin solarización (31días), compost de residuos post-cosecha de clavel y crisantemo con y sin solarización, compost de residuos post-cosecha de clavel y crisantemo + gallinaza con y sin solarización (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos de desinfección ensayados Table 1. Disinfection treatments tested

Tratamiento	Dosis	Código	Observaciones
Compost de alperujo	12 kg·m-2	ALP+BIOF	Incorporado al suelo.
Compost de alperujo + solarización	12 kg·m-2	ALP+BIOS	Polietileno estándar de alta densidad (PE-de 0,037 mm), 31 días.
Compost de residuos de clavel y crisantemo	12 kg·m-2	CL+CR+BIOF	Incorporado al suelo.
Compost de residuos de clavel y crisantemo + solarización	12 kg·m-2	CL+CR+BIOS	Polietileno estándar de alta densidad (PE- de 0,037 mm), 31 días.
Compost de residuos de clavel y crisantemo + gallinaza	5 kg·m-2 compost + 5 kg·m-2 gallinaza	CL+CR+GALL+BIOF	Incorporado al suelo.
Compost de residuos de clavel y crisantemo + gallinaza + solarización	5 kg·m-2 compost + 5 kg·m-2 gallinaza	CL+CR+GALL+BIOS	Polietileno estándar de alta densidad (PE- de 0,037 mm), 31 días.
1,3 dicloropropeno + (60,8% p/p+ 33% p/p)	50 g·m-2 chloropicrina	AGROC	Polietileno estándar de alta densidad (PE- de 0,037 mm), 20 días.
Testigo		TESTIGO	Sin tratamiento.

# Desinfección aplicando el fumigante químico

El fumigante seleccionado fue el 1,3-dicloropropeno (1,3-D) en combinación con cloropicrina (AGROC) (AGROCELHONE® que contiene 80,3% dicloropropeno (60,8% p/p) p/v; y 44% cloropicrina (33,3% p/p) p/v). Fue aplicado por una empresa autorizada mediante inyección a través de tubos perforados (64 inyecciones•m²) fijados en el suelo a una profundidad de 20-30 cm, seguido por una cobertura del suelo durante 20 días con plástico de polietileno transparente de alta densidad (HDPE) de 0,037 mm (150 galgas) usado comúnmente para la fumigación del suelo. El uso de HDPE además puede reducir las emisiones producidas en la fumigación (Ajwa et al., 2002). Los esquejes de clavel se plantaron 48 horas después de levantar el plástico (12 de junio).

Desinfección aplicando materia orgánica con o sin solarización (Biodesinfección)

Se utilizo materia orgánica de diferentes orígenes.

- a) Compost de alperujo (principal subproducto de la industria del aceite de oliva (Albuquerque et al., 2006)): El compost fue preparado y proporcionado por la Universidad de Sevilla (España) e incorporado al suelo mediante una labor de fresadora (12 Kg•m²).
- b) Compost de residuos post-cosecha de clavel y crisantemo: Se cogieron plantas de del último cultivo realizado en el mismo inver-

nadero y donde el 30% de las plantas presentaron síntomas de fusariosis vascular. Los residuos se sometieron a un proceso de compostaje al aire libre en pilas abiertas, con montones de sección trapecial de 2-2,5 m de ancho y 1,8-2 m de alto, con un volumen total aproximado entre 20-30 m<sup>3</sup>. Para favorecer la aireación y la homogeneidad del producto final, se realizó un volteo semanal con pala mecánica y se humedeció en caso de necesidad. Para facilitar la actividad de los microorganismos responsables de la descomposición, al material se le adicionó 2.5 kg de nitrato amónico antes del compostaje. Semanalmente se realizaron controles de temperatura en las pilas de compostaje, a fin de seguir la evolución del proceso y controlar que este se desarrollase en condiciones aeróbicas. El proceso de compostaje se inicio en enero de 2004 y finalizo en mayo. El material vegetal procedía de restos de poda, destrío, etc. del cultivo anterior, donde había un 30 % incidencia de Fod y restos de crisantemo de cultivos de la finca donde se ha realizado el ensavo. La relación C/N antes de agregarla al suelo era de 30,71.

c) Gallinaza+residuos post-cosecha de clavel y crisantemo: Los residuos post-cosecha de clavel y crisantemo se compostaron siguiendo el procedimiento anteriormente descrito e incorporados mediante una labor de fresadora en la proporción de 5 Kg•m<sup>-2</sup> de compost de clavel y crisantemo, y 5 kg•m<sup>-2</sup> de gallinaza sin compostar. Los tratamientos descritos anteriormente fueron aplicados con y sin solarización, y con cobertura del suelo con HDPE de 0,037 mm durante 31 días (10 de mayo al 10 de junio, 2004). No hubo tratamiento de desinfección en las parcelas control, aunque se agregó inoculo de Fod.

La forma de manejar los ensayos de campo en aspectos como irrigación, poda, tratamientos plaguicidas, cosechas, etc. fue la habitualmente utilizada en la zona para obtener la mayor producción.

### Parámetros medidos

La gravedad de la enfermedad se evaluó semanalmente durante los dos años que duró el experimento. Para evaluar los síntomas se utilizó una escala simple, esto es debido a que la densidad de plantación y edad de las plantas impiden una escala más complicada pues el amarilleamiento de las hojas puede ser originado por causas no parasitarias.

La escala utilizada fue: 0, planta sana; 1, planta con al menos el 50% de los tallos con síntomas de enfermedad (incluyendo la necrosis del xilema del tallo); y 2, planta muerta. Los resultados se presentan como el área bajo la curva de la progresión de la enfermedad durante el ciclo de crecimiento y al final del experimento (Jeger y Viljanen-Rolliston, 2001).

La producción comercial de flores (expresada como producción acumulada en número de tallos por metro cuadrado) también se evaluó, siguiendo la época de cosecha habitual en la zona consistente en 31 cortes (cosechas), para ello se seleccionaron 48 plantas de la parte central de cada parcela elemental para su evaluación (192 por tratamiento) evitando de esta manera el efecto borde. La clasificación de la calidad se realizó de acuerdo a la normativa de la Unión Europea para la flor cortada ((ECC) No. 316/68 del Consejo de Regulación). Agrupándose la producción en flores comerciales y no comerciales.

El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante el programa estadístico Statgraphics Plus 5.1 (StatPoint, Inc. 2325 Dulles Corner Boulevard Suite 500 Herndon, Virginia 20171). El análisis de la varianza se hizo para cada variable seguido del test de Tukey para grupos homogéneos por lo que los números con la misma letra no difieren significativamente. Adicionalmente, se hicieron regresiones simples y múltiples para estudiar la correlación entre la gravedad de la enfermedad y las producciones.

#### Resultados

Al final del segundo ciclo de cultivo (junio 2006), 1,3 dicloropropeno + cloropicrina y el compost de residuos de clavel y crisantemo con gallinaza y solarización mostraron menor incidencia de la enfermedad que el testigo (Tabla 2).

Para poder comparar dentro de los tratamientos es esencial conocer la relación entre la producción de flores (31 cosechas durante 24 meses) y la gravedad de la enfermedad a lo largo de 2 años.

Las primeras plantas con síntomas de la enfermedad aparecieron a los 67 días de la plantación, cuando la cosecha aún no había comenzado (Figura 1) y se presentaron en los tratamientos AL + BIOS (6,25% de plantas enfermas), CL + CR + BIOS) (2,8%), CL + CR + GALL + BIOF (1,04%), y AGROC (3,12%).

Los resultados de las producciones se presentan en la Tabla 3. Se dan la producciones acumuladas para las fechas más significativas: a los 119 ddp (dia de los Santos, uno de noviembre), 252 ddp (Semana Santa mediados de marzo) y 300 ddp (día de la madre, 1 ó 7 de mayo). La progresión de la enfermedad en la primera campaña se presenta en la Figura 1. A los 252 días de la plantación el tratamiento AGROC mostró un porcentaje de plantas enfermas del 22,9%, similar al resto de los tratamientos y el tratamiento CL + CR + GALL +

Tabla 2. Gravedad de la fusariosis vascular en clavel. Resultados expresados como el área bajo la curva del progreso de la enfermedad al final de cada campaña de producción (valores acumulados) Table 2. Severity of the Fusarium vascular wilt on carnation. Results expressed as area under the disease progress curve at the end of the growing season

	Área bajo la curva de progre	so de la enfermedad (AUDPC)
TRATAMIENTO	Primera campaña (2004/2005)	Segunda campaña (2005/2006)
TESTIGO	0,161 ab <sup>1</sup>	0,427 ab
ALP+BIOF	0,131 b	0,289 b
ALP+BIOS	0,160 ab	0,283 b
CL+CR+BIOF	0,164 ab	0,522 a
CL+CR+BIOS	0,124 b	0,365 ab
CL+CR+GALL+BIOF	0,212 ab	0,491 ab
CL+CR+GALL+BIOS	0,004 c	0,033 c
AGROC	0,094 c	0,204 b
p-valor	0,0019	0,0004

 $<sup>^1</sup>$  Los números seguidos de la misma letra no difieren significativamente (p  $\leq$  0,05). Análisis de la varianza seguido del Test de Tukey para los grupos homogéneos. Los análisis se realizaron con datos transformados con el arc sen ( $\sqrt{x}$ ) para el área bajo la curva del progreso de la enfermedad estandarizada en el tiempo de la epidemia.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Numbers with the same letter do not differ significantly (p  $\leq$  0.05). Analyses of variance followed by Tukey Test for homogeneous groups. Analyses were performed with transformed data arc sen ( $\sqrt{x}$ ) for the area under the disease progress curve standardized in the epidemic time.

Tabla 3. Gravedad de la fusariosis vascular y producciones comercial y total al final del cultivo Table 3. Severity of the Fusarium vascular wilt on carnation

	252 c	252 días después de la plantación	és de n	322 d la	322 días después de la plantación	s de	641 d la	641 días después de la plantación	ss de n	9 699 2	669 días después de la plantación	és de n
TRATAMIENTO	% plantas enfermas	PT1	PC <sup>2</sup>	% plantas enfermas	PT	PC	% plantas enfermas	Ы	PC	% plantas enfermas	PT <sup>4</sup>	PC <sup>2</sup>
TESTIGO	43,75ab <sup>3</sup>	55,65ab	49,66ab	67,71a <sup>1</sup> 161,17a	161,17a	27,25a	86,46a <sup>1</sup>	252,18a	213,73a	97,92 a <sup>1</sup>	97,92 a¹ 307,45ab 258,95ab	258,95ab
ALP+BIOF	29,17abc	62,22ab	56,43ab	56,43ab 39,58abc 166,58a	166,58a	12,95a	50,00ab	299,53a	277,89a	90,63a	418,37ab	418,37ab 390,55ab
ALP+BIOS	29,17abc	58,75ab	53,14ab	53,14ab 42,71abc 175,27a	175,27a	16,81a	54,17ab	313,83a	284,65a	69,79a	422,05ab	422,05ab 389,39ab
CL+CR+BIOF	33,33abc	47,73ab	43,48ab	68,75a	193,63a	15,46a	100,00a	214,50a	198,46a	100,00a	214,50b	198,46b
CL+CR+BIOS	28,13abc	30,53b	27,25b	68,75ab	184,35a	11,98a	89,58a	276,53a	255,86a	100,00a	326,20ab	301,07ab
CL+CR+GALL+BIOF	42,71ab	52,95ab	46,77ab	72,92a	168,70a	18,16a	98,96a	229,38a	206,77a	98,96a	257,21b	230,93ab
CL+CR+GALL+BIOS	1,04c	82,13a	78,84a	1,04c	211,22a	5,02a	13,54b	370,26a	351,90a	68,75a	529,10a	494,32a
AGROC	22,92abc	63,58ab	55,85ab	25,00abc	186,09a	11,79a	54,17ab	327,16a	295,47a	87,50a	422,05ab	383,78ab
p-valor	0,017	0,0093	0,0113	0,0001	0,1075	0,0822	0,0002	0,0561	0,0671	0,0053	0,016	0,0257

<sup>1</sup> PT: Producción total = PC+ Producción no comercial (número de tallos por  $m^2$ ).

<sup>2</sup> PC: Producción comercial (número de tallos por m²).

³ Los números seguidos de la misma letra no difieren significativamente (p ≤ 0,05). Análisis de la varianza seguido del Test de Tukey para los grupos homogéneos. Los análisis fueron desarrollados con datos transformados con el arc sen (🕸 para el porcentaje de plantas enfermas, % de plantas enfermas y/o muertas desde la plantación hasta el fin de la segunda campaña de cultivo.

 $^{1}$  TP: Total Production = MP+ Not Marketable Production (number of stems per m $^{2}$ ).

 $^2$  MP: Marketable Production (number of stems per m $^2$ ).

 $^3$  Numbers with the same letter do not differ significantly (p  $\leq$  0.05). Analyses of variance followed by Tukey Test for homogeneous groups. Analysis were performed with transformed data arc sen ( $^{1}$ x) for the percentage of diseased plants,  $^{8}$  diseased plants and/or dead from planting until the end of the second growing season.

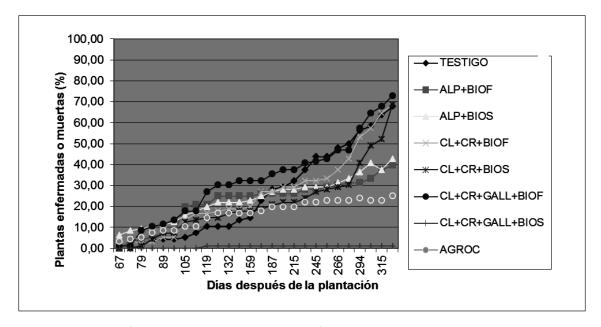


Figura 1. Efecto de los tratamientos de desinfección en la evolución de la incidencia de la enfermedad durante la primera campaña del cultivo del clavel (campaña 2004/2005; fecha de plantación 10/07/2004).

Figure 1. Effects of disinfection treatments on the evolution of the disease incidence during the first growing cycle on carnationon carnation (2004/2005 growing season; planting date 07/10/2004).

BIOS fue el único que presentó un porcentaje de plantas enfermas menor que el testigo (Figura 2). Las mayores producciones al final del primer año se obtuvieron con los tratamientos de AGROC y CL + CR + GALL + BIOS, pero solo con este último tratamiento las producciones son mayores que con los demás.

El incremento de las plantas enfermas no se ajustó a la producción final después del primer año de cultivo y antes de efectuar la poda. Así mientras que la producción acumulada a los 322 días después de la plantación no mostró diferencias entre tratamientos, la gravedad de la enfermedad si lo hizo (Tabla 3). El tratamiento CL + CR + GALL + BIOS mostró los valores más bajos de plantas enfermas.

El índice de correlación entre la gravedad de la enfermedad y la producción fue:  $R^2 = 64,225$  para la producción comercial,  $R^2 = 46,4221$ 

para la producción no comercial y  $R^2 = 58,5167$  para el total de la producción a los 322 días después de la plantación.

La valoración de la producción de flor cortada y la gravedad de la enfermedad tienen un mayor interés en el segundo año, cuando se cosecha el 60% de la producción total. Después del corte, hubo un período durante el cual la enfermedad no mostró síntomas. Después de 108 días, las plantas de clavel volvieron a mostrar síntomas de marchitez por *Fusarium*.

La gravedad de la enfermedad para el tratamiento AGROC, que mostró un bajo porcentaje de plantas enfermas y muertas en del primer año, se incrementó durante el segundo año de cultivo (Figura 2). La biodesinfección con compost de residuos post cosecha de clavel y crisantemo más gallinaza y solarización mostró unos niveles muy bajos de la enferme-

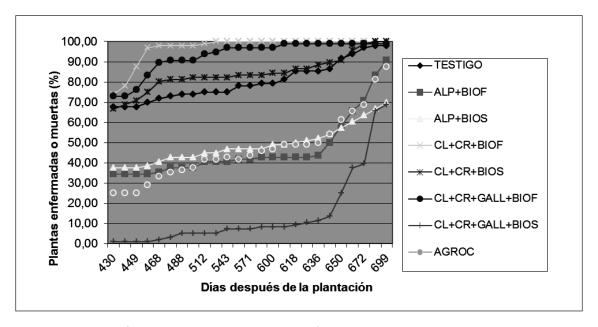


Figura 2. Efecto de los tratamientos de desinfección en la evolución de la incidencia de la enfermedad durante la segunda campaña del cultivo de clavel (campaña 2005/2006; fecha de plantación 10/07/2004).

Figure 2. Effects of disinfection treatments on the evolution of the disease incidence during the second growing cycle on carnation (2005/2006 growing season; planting date 07/10/2004).

dad durante el segundo año, al menos hasta 641 días después de la plantación (Tabla 3).

No se encontraron diferencias entre tratamientos en la producción comercial total y acumulada a los 641 días después de la plantación. El índice de correlación entre la gravedad de la enfermedad y las producciones fue: R² = 55,3300 para la producción comercial, R² = 4,2359 para la producción no comercial y R² = 55,9989 para la producción total a los 322 días después de la plantación. Sin embargo, la producción, en los tratamientos con biodesinfección (CL + CR + GALL + BIOS), y AGROC resultó ser mucho mayor que la producción del resto de tratamientos.

La última valoración se realizó al final del cultivo (669 días después de la plantación). La marchitez por *Fusarium* se había incrementado considerablemente en todos los trata-

mientos (Tabla 3; Figura 2) durante los últimos 58 días tras la anterior evaluación. La producción total acumulada fue mayor para el tratamiento CL + CR + GALL + BIOS que para el resto, seguido por los tratamientos de ALP + BIOF y AGROC. Los coeficientes de correlación entre las producciones y la gravedad de la enfermedad fueron: R<sup>2</sup> = 37,2042 para el total de la producción, R<sup>2</sup> = 38,7287 para lo producción comercial y R<sup>2</sup> = 2,2474 para la producción no comercial.

## Discusión

Los resultados sugieren que el tratamiento al suelo consistente en la biodesinfección con compost de residuos post-cosecha de clavel y crisantemo y 5 Kg•m<sup>-2</sup> de gallinaza sin com-

postar junto con 4 semanas de solarización fue una buena alternativa al 1,3 dicloropropeno + cloropicrina en cultivos de clavel. La gravedad de la marchitez vascular causada por Fusarium en el tratamiento de biodesinfección fue comparable a la obtenida con el tratamiento AGROC el primer año, y menor el segundo. Los tratamientos con solarización no mostraron por lo general un efecto positivo con respecto al control de la marchitez vascular (Tabla 3). Es conocido que la solarización incrementa la temperatura del suelo, disminuyendo las poblaciones de los patógenos en el suelo (Katan, 1996). El efecto se incrementa añadiendo materia orgánica (Lacasa et al., 2002).

La solarización debe de ser aplicada durante el período más cálido del año, para así conseguir el incremento necesario de temperatura en el suelo. En este trabajo, la solarización se realizó en fechas las estipuladas por los productores para obtener los máximos beneficios del cultivo y por tanto la aplicación no se realizó durante la época más calurosa y con mayor intensidad de radiación solar.

Este trabajo intenta encontrar una solución alternativa para el control de la fusariosis en clavel, reemplazando al 1,3 dicloropropeno + cloropicrina como desinfectante del suelo. La alternativa debe de ser efectiva manteniendo la enfermedad a niveles que no supongan un descenso en la producción esperada para 2 años. Otra condición, no tenida en cuenta para los fumigantes químicos, es la retirada de los restos de cultivo que de otra forma constituirían fuentes de inóculo de Fusarium oxysporum f. sp. dianthi para la siguiente plantación, además de ser un problema de acumulación de residuos que afectan a la limpieza que se requiere en las explotaciones. Estas condiciones han sido cumplimentadas por el compost de los residuos post cosecha de clavel y crisantemo (5 Kg•m-2) en combinación con gallinaza (5 Kg•m-2) y 31 días de solarización.

Estos resultados son comparables a aquellos presentados por Lacasa et al. (2002), en los cuales obtuvieron un control efectivo por más de 7-8 meses usando residuos de post-cosecha, incluyendo plantas enfermas con Phytophthora capsici y Meloidogyne incognita, estiércol fresco de oveja y gallinaza en combinación con solarización. Es importante subrayar que el tratamiento permitió además la incorporación de los restos vegetales procedentes de plantas de clavel enfermas sin que se observara un aumento de la gravedad de la enfermedad, debido probablemente a la adición conjunta de la gallinaza y la solarización, ya que en ausencia de ésta se observó una temprana manifestación de la enfermedad. Bollen et al. (1989), Bollen (1993) y Aguilar (2002) demostraron que el compost de residuos vegetales fue capaz de reducir significativamente los inóculos hasta la no expresión de la enfermedad causada por F. oxysporum f. sp. melonis y F. oxysporum f. sp. lycopersici. Los tratamientos sin plástico no alcanzaron el control esperado de la enfermedad, aunque uno de ellos tenía gallinaza. El uso de plantas para la biodesinfección del suelo ha sido estudiado por muchos autores (Sams et al., 1997; Sarwar et al., 1998; Sarwar y Kirkegard, 1998; Kirkegard y Sarwar, 1998; Elena et al., 1999; Bello et al., 1999; Walker y More, 1999) pero estos autores nunca utilizaron plantas enfermas, como se presenta en este trabajo. Los resultados sugieren que la materia orgánica más eficaz para el control de la fusariosis vascular fue la gallinaza. El efecto de la gallinaza por sí sola v combinada con solarización como desinfectante del suelo fue propuesto por Ramírez-Villapudua y Munnecke (1988) aunque la consideraron como no eficaz. Más recientemente estos efectos han sido reportados por Melero et al. (2005) para el control de la fusariosis vascular en clavel. Las investigaciones realizadas sobre la gallinaza y su papel en el control de patógenos del suelo son numerosas. Así algunos autores han considerado el uso de materia orgánica para desinfectar el

suelo, como una forma de control químico, debido a los compuestos tóxicos producidos durante su descomposición. Los trabajos de Gamliel y Stapleton (1993), sugirieron que la solarización acompañada de gallinaza incrementaba el control de las enfermedades si se compara con la solarización y la adición al suelo por separado de gallinaza. Lazarovits et al. (1999) consideraban, en suelos arenosos, la harina de carne y huesos, la harina de soja, la harina de pescado y la gallinaza como reductores de la incidencia de las enfermedades causadas por Verticillium dahliae y Streptomyces scabies, así como reductoras de las poblaciones de *Meloidogyne*. Dosis del 2% (peso/peso) de estas materias orgánicas son letales en una semana para los microesclerocios de V. dahliae (Tenuta y Lazarovits, 2002a). Tenuta v Lazarovits (2002b) consideraron que la muerte de los microesclerocios de V. dahliae se debía a la acción del amoniaco durante la primera semana de aplicación.

El método propuesto para el control de la fusariosis vascular en clavel utilizando residuos de cultivo permite, no sólo el control de la enfermedad, sino que además mantiene el medio ambiente libre de residuos mediante el uso de plantas enfermas y sanas como subproductos útiles. Un modelo para el eficiente control de enfermedades de origen edáfico.

# Bibliografía

- Aguilar MI, 2002. Efecto del compostaje de residuos de plantas hortícolas infectadas sobre la viabilidad de hongos y virus fitopatógenos. Tesis Doctoral, Universidad de Almería, Almería, Spain.
- Ajwa HA, Trout T, Mueller J, Wilhelm S, Nelson SD, Soppe R, Shatley D, 2002. Application of alternative fumigants through drip irrigation systems. Phytopathology 92, 1349-1355.
- Alabouvette C, Olivain Ch, Steinberg Ch, 2005: Maîtrise des communites microbiennes pour

- lutter contre les maladies d'origine tellurique. In Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement., edited by Regnault-Roger C, Fabres G and Philogène BJR, Paris: Tec. et Doc. Lavoisier, 571-588.
- Alburquerque JA, Gonzálvez J, García D, Cegarra J, 2006. Composting of a solid olive-mill by-product ("alperujo") and the potential of the resulting compost for cultivating pepper under commercial conditions. Waste Management 26, 620-626.
- Andrés Arés JL, 1995. La Fusariosis vascular del clavel en Galicia: Estudio crítico acerca de los patotipos de *Fusarium oxysporum* f sp *dianthi* en las comunidades de Galicia y Murcia. Tesis Doctoral. Universidad Politecnica de Madrid, Madrid, Spain.
- Baayen RP, 1988. Fusarium wilt of carnation. PhD Thesis, Utrecht University, Utrecht.
- Baker RR, 1980. Measures to control *Fusarium* and *Phialophora* wilt pathogens of carnation. Plant Diseases 64, 743-749.
- Bello A, López-Pérez JA, Díaz-Viruliche L, Sanz R, Arias M, 1999. Bio-fumigation and local resources as methyl bromide alternatives. Abstracts 3rd International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries, 7-10 December, Heraclion, Creta, Grecia, 17 p.
- Bollen GJ, 1993. Factors involved in inactivation of plant pathogens during composting of crop residues. In: Science and engineering of composting: Design, environmental, microbiological and utilization aspect. Eds. HAJ Hoitink and HM Keener, 301-318.
- Bollen GJ, Volker D, Wijnen AP, 1989. Inactivation of soil-borne plant pathogens during small-scale composting of crop residues. Netherland Journal of Plant Pathology 95: 19-30.
- Diez Rojo MA, 2010. Bases agronómicas para la utilización de restos agrarios en biodesinfección de suelos. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. 409.
- Elena K, Paplomatas EJ, Petsikos-Panayotarou N, 1999. Biodesinfestation an alternative to control soil pathogens. Proceedings of Internatio-

- nal Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries", Heraklion, Crete, Greece, 81-82.
- English SW, 1974. Producción comercial de claveles. Ed Acribia. Zaragoza, 241 pp.
- Gamliel A, Stapleton J, 1992. Characterization antifungal volatile compounds involved from solarized soil amended with cabbage residues. Phtytopathology, 83, 899-908.
- García-Ruiz A, de Cara M, Santos M, Tello JC, 2009. La fusariosis vascular del clavel en la costa noroeste de Cádiz. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 35:317-328.
- Garibaldi A, Gullino ML, 1987. Fusarium wilt of carnation. Present situation, problems and perspectives. Acta Horticulturae 216, 45-54.
- Jeger MJ, Viljanen-Rollinson SLH, 2001. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to asses quantitative disease resistance in crops cultivars. Theoretical Applied Genetics 102: 1432-2242.
- Katan T, 1996. Soil solarization: integrated control aspects. In Hall R. Principle and practice of managing soilborne plant pathogens. APS Press, St. Paul, Minnessota.
- Kirkegaard J, Sarwar M, 1998. Biofumigation potencial of brassicas. Plant and Soil 201, 71-89.
- Lacasa A, Guerrero MM, Guirao P, Ros C, 2002. Alternatives to methyl bromide in sweet pepper crops in Spain. In: Batchelor, T, Bolivar, J.M. (Ed) Proceedings of International Conference on Alternatives to MB The remaining challenges, European Commission, Sevilla, 5-8 March. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 187-192.
- MAPA Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, 2010. Anuario de Estadística Agraria. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. España. http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estad-publicaciones/anuario-de-estadistica/2010/default.aspx?parte=3&capitulo=13
- Melero-Vara JM, López-Herrera CJ, Basallote-Ureba MJ, Navas JA, López M, Vela MD, Prados Ligero AM, 2005. Physical and Chemical Me-

- thods of Controlling Fusarium Wilt of Carnation as Alternatives to Methyl Bromide Treatments. Proc. VIth IS on Chemical and Non Chemical Soil and Substrate disinfestation. Acta Horticulturae 698, 175-179.
- Pizano M, 2000. Clavel. Ed. Ediciones Hortitécnica Ltda. Bogotá. Colombia, 181 pp.
- Sams CE, Charron CS, Chardonnet CO, 1997. The potential for using Brassicas as an alternative to methyl bromide in controlling soil-borne diseases. International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Nov 3-5, 1997. San Diego. California 19, 1-2.
- Sarwar M, Kirkegaard JA, 1998. Biofumigation potential of brasicas. II. Effect of environment and ontogeny on glucosinolate production and implications for screening. Plant and Soil 201, 91-101.
- Sarwar M, Kirkegaard JA, Wong PTW, Desmarchelier JM. 1998. Biofumigation potential of brasicas. III. In vitro toxicity of isothiocianates to soil-borne fungal pathogens. Plant and Soil 201, 103-112.
- Tello JC, Lacasa A, 1990. Fusarium oxysporum en los cultivos intensivos del litoral mediterráneo de España. Fases parasitaria (Fusariosis vascular del tomate y del clavel) y no parasitaria. Boletín de Sanidad Vegetal, Fuera de serie 19, 190.
- Tenuta M, Lazarovits G, 2002a. Ammonia and nitrous acid from nitrogenous amendments kill the microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathology, 92, 255-264.
- Tenuta M, Lazarovits G, 2002b. Identification of specific soil properties that affect the accumulation and toxicity of ammonia to *Verticillium dahliae*. Can. J. Plant Pathol., 24, 219-229.
- Tramier R, 1986. La Fusariose vasculaire de l'oeillet. Dix ans de recherche. Phytoma 2, 45-48.
- Walker GE, Morey BG, 1999: Effect of Brassica and weed manures on abundance of *Tylenchulus semipenetrans* and fungi in citrus orchard soil. Australian Journal of Experimental Agriculture 39, 65-72.
- (Aceptado para publicación el 27 de septiembre de 2012)