



Mediante este trabajo se ha evaluado la eficacia al margen de las materias orgánicas utilizadas y de eficacia contrastada en el control de la fusariosis vascular, que es factible utilizar subproductos de la industria agroalimentaria y que abre un abanico de posibilidades en el control de patógenos de suelo, y concretamente en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Dentro de los ensayos se han evaluado estiércol de gallina, vacuno, combinaciones de estiércol de gallina y vacuno a diferentes dosis.. Como tratamientos químicos se han utilizado cloropicrina, dicloropropeno, dicloropropeno + cloropicrina. Además en el diseño de los tratamientos había un testigo sin tratamiento alguno, y un tratamiento exclusivamente con solarización.. Como subproductos agroindustriales y en las mismas condiciones de aplicación que los anteriores se han utilizado alperujo de olivo semicompostado, orujo fresco de vid, vinaza líquida de remolacha, y también pellet de brassica.

Se evaluó la microbiota fusárica antes y después de los tratamientos, severidad de la enfermedad semanalmente en los distintos tratamientos durante el ciclo de cultivo (campaña 2010-2011) y cuantificando los datos de producción en los diferentes tratamientos. Los resultados obtenidos, muestran como de todos los tratamientos ensayados salvo en el tratamiento testigo y el tratamiento solarizado, donde la severidad de la enfermedad si han mostrado diferencias significativas, en el resto los diferentes tratamientos no existen diferencias entre ellos, ni entre los tratamientos químicos ni los tratamientos donde se ha realizado la biodesinfección. Concluyendo, al margen de la las materias primas aplicadas y contrastadas en trabajos anteriores, la utilización de ciertos subproductos agroindustriales son viables para el control sanitario del suelo, caso de la fusariosis vascular en clavel.

TRATAMIENTOS	Microbiota fusárica en UFC·g <sup>-1</sup> suelo					
	<i>F. oxysporum</i>		<i>F. solani</i>		<i>F. roseum</i>	
	A	b	A	b	A	B
Testigo sin solar.	1246±229	1187±301	143±45	114±60	837±178	635±41
Testigo solar.	1585±262	12±3	204±24	1±2	991±186	0+0
Diclorop. (20 días)	1332±241	33±8	206±32	9±4	811±219	5±5
Diclorop. + clorop. (20 días)	1324±436	0+0	133±66	0+0	957±238	0+0
Cloropic. (20 días)	1194±200	7±5	99±37	0+0	830±101	0+0
Vac. 4 + Solar. + Restos 2	1342±297	±3	79±30	2±3	755±130	0+0
Vac. 2 + Solar. + Restos 2	1214±250	2±1	249±51	4±2	1012±180	0+0
Gallin. 4 + Solar. + Restos 2	1279±273	3±1	234±34	0+0	717±141	0+0
Gallin. 2 + Solar. + Restos 2	1096±276	0+0	149±45	0+0	869±140	0+0
Vac. 4 + Gallin. 2 + Solar.	1225±191	15±7	94±22	5±2	856±159	0+0
Vac. 3 + Gallin. 1 + Solar.	1106±299	2±3	163±45	0+0	737±118	1±1
Alperujo 4 + Solar.	1385±272	14±3	204±24	7±2	591±96	4±1
Vinaza 2 + Solar.	1132±231	13±8	126±32	7±4	941±219	5±3
Orujo fresco vid 4 + solar.	1424±336	3±1	233±56	4±2	817±208	0+0
Pellet brassica 0,25 +Solar.	1104±236	9±5	196±57	9±6	7380±114	5±2

Valores ( media ± desviación típica ) en unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco. a: muestras tomadas antes de los tratamientos de desinfección de suelo b: muestras tomadas después de los tratamientos de desinfección de suelo. Testigo sin solar.: Testigo sin solarización; Testigo solar.: Testigo y 4 semanas de solarización; Diclorop.: dicloropropeno (40g m<sup>-2</sup>); Diclorop. + clorop.: dicloropropeno+cloropicrina (50g m<sup>-2</sup>); Cloropic.: Cloropicrina (40g m<sup>-2</sup>); Vac. 4 + solar.+ restos 2: estiércol de vacuno (4Kg m<sup>-2</sup>) y + restos de cosecha de clavel (2Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; Vac. 2 + solar.+ restos 2: estiércol de vacuno (2Kg m<sup>-2</sup>) y + restos de cosecha de clavel (2Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; Gallin. 4 + solar.+ restos 2: estiércol de gallina (4Kg m<sup>-2</sup>) y + restos de cosecha de clavel (2Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; Gallin. 2 + solar.+ restos 2: estiércol de gallina (2Kg m<sup>-2</sup>) y + restos de cosecha de clavel (2Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; Vac. 4 + Gallin. 2 + solar.: estiércol de vacuno (4Kg m<sup>-2</sup>) + estiércol de gallina (2Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; estiércol de vacuno (3Kg m<sup>-2</sup>) + estiércol de gallina (1Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; Alperujo 4 + solar.:Alperujo de almazara de olivar (4Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; Vinaza 2 + solar.: Vinaza de remolacha (2Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; Orujo fresco vid 4 + solar.: Orujo prensa de vid (4Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización; Pellet de brassica 0,25 + solar.: Pellet de brassica (0,25 Kg m<sup>-2</sup>) + 4 semanas de solarización.

Tabla 1. Microbiota fusárica de suelo antes y después de los tratamientos de desinfección.

**Abstract:** Since the start of the first cases of fusarium wilt in the area of Chipiona (Cádiz), approximately four or five years of introduced cultivation has been very difficult to control this disease brought about by the climatic conditions of Spain, having been the only effective method of soil disinfection methyl bromide (MB). Today, there are other alternatives for soil disinfection based on the input of organic matter, biodesinfección and proven in the area (GARCÍA-RUIZ, J.P. GARCÍA BERNAL 2008).

## Control biológico de la Fusariosis vascular del tomate: evaluación del riesgo exigido por las Directivas Europeas

Gema Vázquez, Paloma Melgarejo, e Inmaculada Larena (SGIT-INIA, Departamento de Protección Vegetal, Madrid. E-mail: ilarena@inia.es).

Maira Martínez-Alonso, Nuria Gaju (Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Biociencias. UAB. Bellaterra, Barcelona).

**El registro y comercialización de un microorganismo como biofungicida requiere hacer una rigurosa evaluación del riesgo tal y como viene definido por el reglamento europeo 1107/2009 concerniente a la introducción de los productos de protección vegetal en el Mercado. Hitos básicos en esta evaluación son la dispersión y comportamiento del biofungicida en el ambiente donde va a ser liberado, que incluye el estudio de su persistencia y movilidad en el ambiente así como los efectos sobre otros microorganismos no diana.**

*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopercisi* (FOL) es el hongo causante de la marchitez vascular del tomate. La cepa 212 de *Penicillium oxalicum* (P0212) ha demostrado ser un agente de control biológico eficaz frente a la Fusariosis vascular del tomate causada por FOL, cuando éste es aplicado como conidias en el sustrato de semillero.

Con el objetivo de adecuar nuestra materia activa a los principios específicos requeridos por la Unión Europea para su aplicación y comercialización nuestro trabajo se centró en el estudio de i) la persistencia y la movilidad vertical y horizontal de P0212 en dos tipos diferentes de suelos de Madrid: arenoso y arcilloso, y ii) el efecto de su aplicación sobre las poblaciones fúngicas no diana del suelo.

La viabilidad se estimó como UFCs por g de suelo en medio semi-selectivo y la biomasa se cuantificó específicamente como ng de biomasa seca por g de suelo mediante PCR en tiempo real, a lo largo del tiempo desde la aplicación del tratamiento en ambos tipos de suelo. Los resultados mostraron que P0212 sobrevivió hasta los 365 d en condiciones de campo en los 2 tipos diferentes de suelo a una concentración entre 0,45 y 61,2 ng biomasa seca g<sup>-1</sup> suelo (1 mg de biomasa seca corresponde a 6,01 mg de biomasa fresca y 0,94 µg de ADN) con una viabilidad de 10<sup>2-3</sup> UFCs g<sup>-1</sup> suelo. Estos valores son similares a los de cepas indígenas de



*Penicillium* spp. presentes en esos suelos. Además, PO212 mostró una limitada movilidad en todos los tipos de suelos ensayados y a todas las distancias tanto en horizontal desde la planta hasta los 30 cm como en profundidad hasta los 10 cm (concentración de  $2-4 \times 10^3$  ng biomasa seca  $g^{-1}$  suelo con una viabilidad de  $10^{2-3}$  UFCs  $g^{-1}$  suelo).

El efecto de la aplicación de PO212 sobre las poblaciones fúngicas no diana del suelo se estudió mediante el uso de PCR-DGGE (electroforesis en geles de gradiente desnaturalizante). Se observó que las poblaciones de hongos variaban a lo largo del tiempo tanto en las capas superficiales (5 cm) como en las profundas (10 cm) del suelo donde fue aplicado el ACB. Sin embargo, estas variaciones se observaron tanto en los suelos no tratados como en los tratados con PO212.

En conclusión, la aplicación de *P. oxalicum* 212 no representa un riesgo medioambiental para su uso como ACB frente a patógenos vegetales de suelo.

**Abstract:** The registration and trading of a microorganism as a fungicide calls for rigorous risk assessment as defined by European regulation 1107/2009, concerning the introduction of plant protection products to the market. Basic milestones in this evaluation are the dispersion and behaviour of the fungicide in the environment where it is to be released, including the study of persistence and mobility in the environment and the effects on other non-target microorganisms.

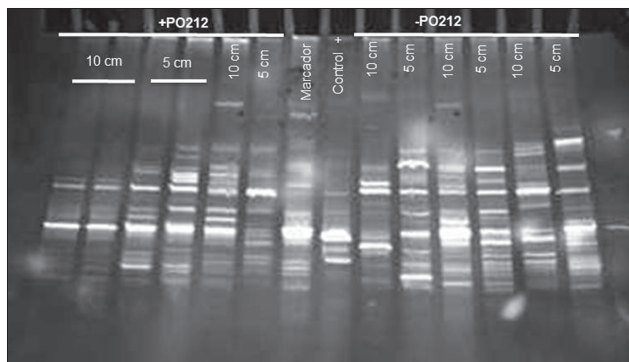


Figura 1. Perfil de bandas de la DGGE donde se comparan las poblaciones fúngicas en suelos de cultivo de tomate tratados con PO212 (+PO212) y suelos sin tratar (-PO212) en dos profundidades (5 cm) y (10 cm) a los 365 días desde el trasplante.

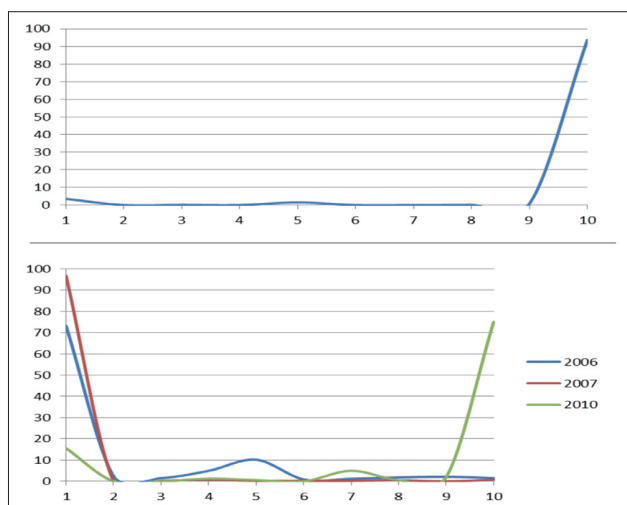
## Evolución de la resistencia de *Monilinia laxa* y *Monilinia laxa* al metiltiofanato en huertos de melocotonero del Valle del Ebro

B. Egüen, P. Melgarejo y A. De Cal (Departamento de Protección Vegetal, INIA, España).

La Podredumbre parda causada por *Monilinia* spp. es la enfermedad que ocasiona pérdidas más importantes en cultivos de frutales de hueso. *Monilinia laxa* y *Monilinia fructigena* eran las especies causantes de la Podredumbre parda en España hasta el año 2006 en que apareció una tercera especie, *Monilinia fructicola*, en el Valle del Ebro. *M. fructicola* presenta un alto potencial de desarrollo de resistencia a bencimidazoles en lugares donde esta especie está establecida desde hace muchos años. Sin embargo, ningún aislado de *M. laxa* o *M. fructigena* resistente a dicha materia activa se había observado en España hasta 2006.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar la resistencia al bencimidazol metiltiofanato en una colección de más de 827 aislados de *M. laxa* y *M. fructicola* obtenidos de huertos de frutales de hueso entre 2006 y 2010. Los aislados fueron identificados por sus características morfológicas, así como por sondas específicas de cada especie. Las dosis discriminatorias entre aislados resistentes y sensibles al metiltiofanato fueron: 0-2-6 mg/l en agar patata dextrosa. Se utilizaron tres placas por aislado y dosis y el ensayo completo para todos los aislados se repitió dos veces. Los aislados se clasificaban como resistentes cuando su crecimiento sobre el medio con y sin fungicida era idéntico. Los aislados sensibles sólo crecían sobre medio sin fungicida. El crecimiento relativo de los aislados de *Monilinia* en medio con metiltiofanato se dividió en 10 grupos (0-100%) para cada año y especie. Se analiza la frecuencia de cada grupo mediante un análisis de la varianza y posterior comparación de medias mediante el test de Newman Keul's ( $P=0.05$ ). Los aislados de *M. fructicola* recogidos en el Valle del Ebro presentan un 90% de resistencia a metiltiofanato a la dosis 6 mg/l (con un crecimiento relativo superior al 95%) desde el primer año de estudio (Figura), mientras que los aislados de *M. laxa* presentan una diferencia significativa en la distribución de frecuencias a lo largo de los años (Figura).

Así en el año 2006 la mayoría de los aislados de *M. laxa* eran susceptibles a



Distribución de frecuencias de las poblaciones de *Monilinia fructicola* A) y *M. laxa* del Valle del Ebro en cada una de las 10 categorías de crecimiento sobre PDA con 6 mg/l de metiltiofanato durante los años 2006, 2007 y 2010.