

## El proyecto Core Organic 2 Bio-Incrop: componentes, objetivos y trabajos en marcha

Pérez-Piqueres A<sup>1</sup>, Domínguez A<sup>2</sup>, Albiach R<sup>1</sup>, Pomares F<sup>1</sup>, Canet R<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro para el Desarrollo de la Agricultura Sostenible. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (CDAS-IVIA). Apartado oficial. 46113-Moncada. Dirección electrónica: [canet\\_rod@gva.es](mailto:canet_rod@gva.es).

<sup>2</sup> Estación Experimental Agraria de Carcaixent. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (EEAC-IVIA).

### RESUMEN

Caídas de producción, desórdenes de crecimiento o incluso muerte de las plantas debido a enfermedades del suelo son comunes en cultivos plurianuales como los frutales. En estos casos, junto a la presencia de patógenos en el suelo, adquieren una especial relevancia los niveles de actividad y diversidad microbiológica del suelo. El mantenimiento de estos y el reconocimiento de su función dentro de los agrosistemas son fundamentales en la práctica de la agricultura ecológica. El proyecto BIO-INCRROP pretende estudiar técnicas de cultivo capaces de incrementar la funcionalidad biológica del suelo, con especial enfoque sobre la capacidad supresiva del suelo. Representando a dos de los principales ambientes agronómicos europeos, los trabajos se centrarán en manzano (en Italia, Austria, Alemania, Suiza y Turquía) y cítricos (España y Turquía). Los principales aspectos a investigar serán el uso de diferentes materiales orgánicos con capacidad para incrementar la vida microbiana del suelo, los tratamientos y prácticas con potencial para reducir la afección de enfermedades del suelo (cubiertas vegetales biodesinfectantes, biofumigación, solarización, plantación en zonas alternas, etc.) y el ensayo en condiciones controladas de productos autorizados para uso en agricultura ecológica con capacidad desinfectante y estimulante de la vida microbiana del suelo (cepas específicas de hongos y bacterias, micorrizas, extractos, etc.). El proyecto está liderado por Luisa Manici, del CRA-CIN de Bolonia (Italia) y los trabajos en España por Rodolfo Canet, del CDAS-IVIA.

**Palabras clave:** biodesinfección, biofumigación, cítricos, manzano, suelo, solarización

Los cultivos plurianuales como los frutales se ven afectados frecuentemente por descensos en la producción, desórdenes de crecimiento y muerte de las plantas en los

casos más severos, debido a enfermedades del suelo que continúan, en la mayoría de los casos, tras el replante de los cultivos. Se ha visto también que los problemas de replantación están estrechamente relacionados con problemas de degradación del suelo de cultivo (Manici y Caputo 2010) que conllevan variaciones en las poblaciones microbianas y sus actividades.

La diversidad microbiana es uno de los mejores indicadores de la salud del suelo (Kennedy et al. 1995, Pankhurst et al. 1995) y es un factor muy importante en la supresividad del mismo (Garbeva et al. 2004). La supresión de las enfermedades del suelo puede estar influida por el cultivo y las prácticas de manejo (Huber y Watson 1970), por lo que el mantenimiento de los niveles de actividad y diversidad microbiológica del suelo es fundamental en la práctica de la agricultura ecológica.

El proyecto BIO-INCROP pretende estudiar técnicas de cultivo capaces de incrementar la funcionalidad biológica del suelo, con un especial enfoque sobre la capacidad supresiva del mismo frente al desarrollo de enfermedades. Los trabajos del proyecto se centrarán en dos cultivos frutales muy importantes en Europa como son el manzano, con trabajos que se desarrollarán en Italia, Austria, Alemania, Suiza y Turquía, y los cítricos, con ensayos que se desarrollarán en España y Turquía. En el proyecto se van a investigar principalmente el uso de diferentes materiales orgánicos con capacidad para incrementar la vida microbiana del suelo, los tratamientos y prácticas con potencial para reducir la afección de enfermedades del suelo (cubiertas vegetales biodesinfectantes, biofumigación, solarización, plantación en zonas alternas, etc.) y diversos productos autorizados para uso en agricultura ecológica con capacidad desinfectante y estimulante de la vida microbiana del suelo (cepas específicas de hongos y bacterias, micorrizas, extractos, etc.).

El proyecto BIO-INCROP está coordinado por la investigadora Luisa Manici del Agricultural Research Council de Bolonia (Italia) y en él participan los siguientes socios europeos:

-Laimburg Research Centre for Agriculture and Forestry de Italia coordinado por el Dr. Markus Kelderer.

-DLR Rheinpfalz, Center of Competence de Alemania coordinado por el Dr. Gerhard Baab.

-Landwirtschaftliches Versuchszentrum Graz-Haidegg de Austria coordinado por el Dr. Thomas Rühmer.

-Departamento de Microbiología de la Universidad de Innsbruch de Austria coordinado por la Dra. Ingrid Whittle.

-Agroscope Changins-Wädenswil Research Station de Suiza coordinado por el Dr. Andreas Naef .

-Egirdir Horticulture Research de Turquía coordinado por el Dr. Suat Kaymak.

-Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) de España coordinado por el Dr. Rodolfo Canet.

El proyecto, concedido en mayo de 2011 para el periodo 2012-14, se inició a principios de este año con una primera reunión de coordinación en Bolonia (Italia) para la puesta en marcha de los ensayos en los distintos países y en noviembre se realizará la segunda reunión de coordinación para ver cómo se están desarrollando los mismos.

#### Trabajos en España

El equipo de trabajo español está compuesto por los miembros del grupo 'Fertilidad y conservación del suelo', liderado por Fernando Pomares (con Rodolfo Canet, especialista en manejo de la materia orgánica, Remedios Albiach, en actividad biológica del suelo y Ana Pérez-Piqueres, en supresividad del suelo), junto a Alfons Domínguez, de la Estación Experimental Agraria de Carcaixent (EEAC-IVIA), especialista en citricultura ecológica y el uso de cubiertas vegetales.

El papel del grupo español se centra en el estudio sobre la producción de cítricos en el área mediterránea, con especial interés en las técnicas orgánicas para la lucha contra los problemas crecientes de baja productividad y aparición de enfermedades derivadas del manejo intensivo convencional. En los distintos ensayos que se están realizando se hace especial hincapié en la utilización de índices bioquímicos (actividades enzimáticas y el carbono de la biomasa microbiana) y de indicadores microbiológicos (densidad, actividad y diversidad microbiana) para evaluar los cambios en la calidad y salud del suelo.

Los trabajos se centran en dos líneas independientes: un estudio de campo del efecto del manejo del suelo sobre distintos parámetros del mismo (físicoquímicos, bioquímicos, biomasa microbiana, poblaciones microbianas seleccionadas, etc.) y sobre el estado de la plantación (estado nutricional y parámetros vegetativos), y un ensayo del efecto del uso de diversos productos de base biológica autorizados para uso en agricultura ecológica sobre los árboles, estudiando el estado nutricional y los parámetros vegetativos, tanto en campo como en maceta.

Ambos ensayos de campo (manejo del suelo y uso de productos comerciales) están localizados en una parcela de 1,2 ha en una finca comercial de Gandia (Valencia). La explotación es antigua, con una tradición de cultivo de cítricos de más de cien años, con un suelo compactado y un largo registro de ataques de *Phytophthora*. Previamente al inicio de los ensayos se retiraron los árboles de la parcela experimental, de unos 25-30 años de edad, y se preparó el suelo sin realizarse ningún tratamiento adicional, ya que a partir del inicio del proyecto pasaría a cultivarse de forma ecológica.

El planteamiento experimental del ensayo de valoración de técnicas de manejo del suelo consistió en la comparación de cinco tratamientos:

- control, sin ningún tipo de manejo
- solarización
- cubiertas vegetales biodesinfectantes (una mezcla de *Sinapis alba*, *Brassica carinata*, *Brassica rapa* y *Brassica juncea*)
- aplicación de estiércol de ovino compostado
- solarización + biofumigación con estiércol de ovino compostado en cantidades similares al tratamiento de aplicación de enmienda;

cada uno de los tratamientos se estableció por triplicado en subparcelas de ocho árboles (Figura 1).

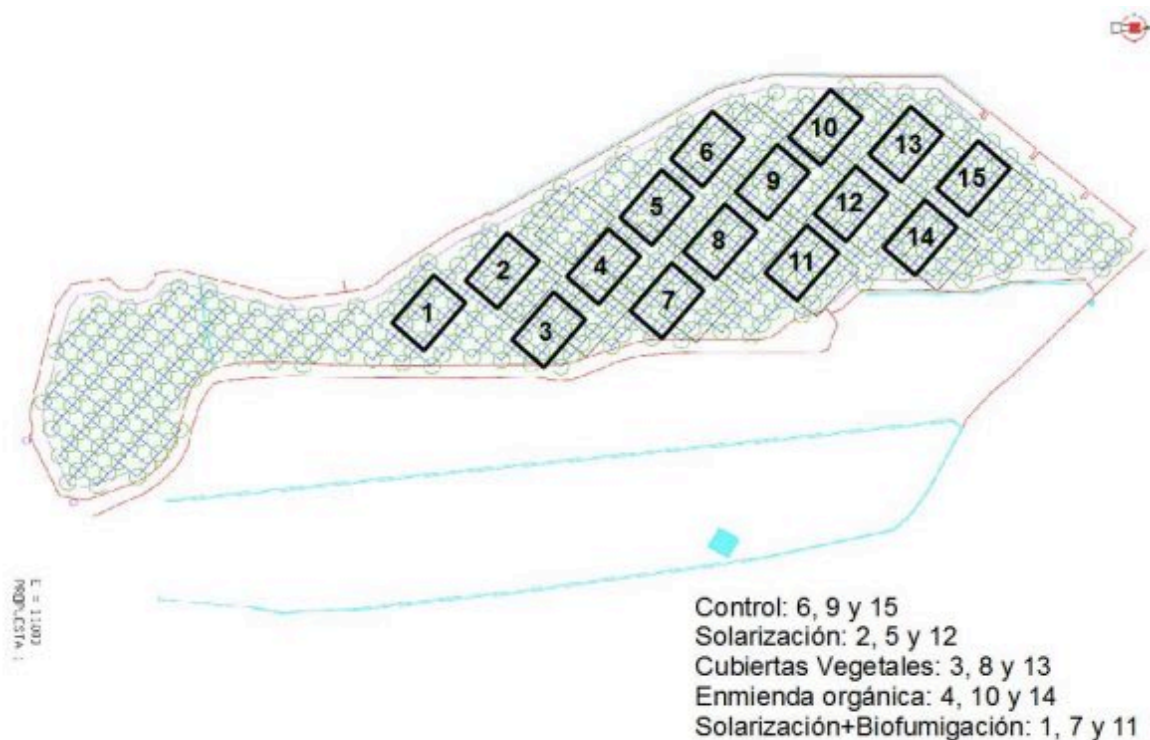


Figura 1. Diseño experimental del ensayo de valoración de técnicas de manejo del suelo.

Los tratamientos han sido ya aplicados y en septiembre se procederá al muestreo de suelo antes de la plantación de los nuevos árboles, que serán *Citrus sinensis* var. *Salustiana* sobre *Citrango* carrizo (*C. sinensis* x *Poncirus trifoliata*). Dichas muestras se analizarán para ver el efecto de los tratamientos ensayados en los parámetros físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos del suelo. Se pretende realizar muestreos periódicos cada seis meses para ver la evolución de los distintos parámetros estudiados.

Los parámetros bioquímicos que se analizarán en el suelo son:

- carbono de la biomasa microbiana (Vance et al. 1987), que nos da una estimación indirecta de la población microbiana en el suelo
- actividad enzimática deshidrogenasa (Casida et al. 1964), que es una medida relacionada con la actividad general del suelo
- actividades fosfomonoesterasa alcalina (Tabatabai y Bremner 1969, modificado por Eivazi y Tabatabai 1977) y fosfodiesterasa (Browman y Tabatabai 1978), ambas relacionadas con el ciclo del fósforo
- actividad ureasa (Kandeler y Gerber 1988), relacionada con el ciclo del nitrógeno
- actividades  $\beta$ -D-glucosidasa (Tabatabai 1982, modificado por Eivazi y Tabatabai 1988) y N-acetil-glucosaminidasa (Parham y Deng 2000), ambas relacionadas con el ciclo del carbono
- actividad arilsulfatasa (Tabatabai y Bremner 1970), relacionada con el ciclo del azufre.

El estudio microbiológico del suelo se realizará a tres niveles:

- a nivel general, con recuento en placa de bacterias, hongos (PérezPiqueres et al. 2006) y actinomicetos (Vargas et al. 2009), que nos darán una indicación cualitativa de los cambios producidos en las comunidades del suelo
- a nivel funcional con el recuento de poblaciones implicadas en el ciclo del nitrógeno como son bacterias nitrificantes (amonio oxidantes (AOB) y nitrito oxidantes (NOB)) y bacterias desnitrificantes (Roux-Michollet et al. 2008)
- a nivel de recuento de géneros específicos relacionados con la capacidad de promover el crecimiento de las plantas y el biocontrol de enfermedades como son *Trichoderma* spp (Bulluck et al. 2002), *Pseudomonas* (Naiman et al. 2009) y *Bacillus* (Yi et al. 2012). Se realizará también la evaluación del potencial de oxidación de amonio mediante la medición de la actividad correspondiente a las bacterias AOB contabilizadas (Elsgaard et al. 2001).

Del mismo modo, se evaluará el efecto de los tratamientos sobre el potencial infeccioso del suelo de la parcela de cultivo realizando ensayos estandarizados en cámara de cultivo (Pérez-Piqueres et al. 2006). También se realizarán mediciones de los parámetros vegetativos indicadores de crecimiento de los plantones (altura, diámetros inferior y superior del tronco, diámetro de copa, etc.), así como muestreos foliares para conocer el estado nutritivo de los árboles tras la aplicación de las distintas formas de manejo del suelo.

Respecto a los ensayos de uso de productos de base biológica autorizados para agricultura ecológica, el de campo se va a iniciar con la plantación a finales de septiembre en la zona izquierda de la parcela experimental en Gandia, con ocho repeticiones por producto ensayado. El ensayo en macetas, iniciado en el segundo trimestre del año, se encuentra localizado en una parcela experimental al aire libre del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias dotada de riego por goteo. El diseño experimental consta de once tratamientos: un control y diez productos comerciales autorizados para su uso en agricultura ecológica a base de microorganismos (*Trichoderma*, *Bacillus*, etc.), algas, extractos de plantas, etc. Cada tratamiento se aplicó a dieciocho plantones de clementino de un año de edad (*Citrus clementina*, variedad *clemenules* sobre patrón *Citrangue carrizo*), que se distribuyeron al azar en la parcela experimental. Se realizarán mediciones periódicas de los parámetros de crecimiento vegetativo de los plantones, para valorar el efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de los mismos, así como muestreos foliares para conocer su estado nutricional.

Los trabajos se encuentra por tanto en marcha y se espera que puedan ofrecer datos útiles sobre las opciones de manejo capaces de incrementar el funcionamiento biológico del suelo, de forma que se favorezca el control natural de los agentes patógenos productores de las enfermedades del suelo tras la replantación.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores reconocen y agradecen el apoyo financiero para este proyecto provisto por las organizaciones financiadoras de CORE Organic II, socios del proyecto FP7 ERA-Net CORE Organic II (Coordinación de Investigación Transnacional Europea en Alimentación Ecológica y Sistemas de Cultivo, proyecto nº 249667). Más información en [www.coreorganic2.org](http://www.coreorganic2.org). El texto en este artículo es responsabilidad única del autor y no refleja necesariamente las opiniones de las organizaciones nacionales que han financiado este proyecto.

## REFERENCIAS

- Browman MG, Tabatabai MA. 1978. Phosphodiesterase activity of soils. *Soil Science Society of America Journal* 42, 284-290.
- Bulluck LR III, Brosius M, Evanylo GK, Ristaino JB. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19 (2), 147-160.
- Casida LE, Klein DA, Santoro T. 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soil Science* 98, 371-376.
- Eivazi F, Tabatabai MA. 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 9, 167- 172.
- Eivazi F, Tabatabai MA. 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 20, 601-606.
- Elsgaard L, Petersen SO, Deboz K. 2001. Effects and risk assessment of linear alkylbenzene sulfonates in agricultural soil. 1. Short-term effects on soil microbiology. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, No. 8,1656–166.
- Garbeva P, van Veen JA, van Elsas JD. 2004. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology* 42, 243-270.
- Huber DM, Watson RD. 1970. Effect of organic amendments on soil-borne plant pathogens. *Phytopathology* 60, 22–26.
- Kandeler E, Gerber H. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils* 6, 68-72.
- Kennedy AC, Papendick RI. 1995. Microbial characteristics of soil quality. *Journal of Soil and Water Conservation* May-June, 243-248.
- Manici LM, Caputo F. 2010. Soil fungal communities as indicators for replanting new peach orchards in intensively cultivated areas. *European Journal of Agronomy* 33, 188-196.
- Naiman AD, Latrónico A, García de Salamone IE, Bashan Y, Hartmann A. 2009. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: impact on the production and culturable rhizosphere microflora. *European Journal of Soil Biology* 45, 1, 44-51.
- Pankhurst CE, Hawke BG, McDonald HJ, Kirkby CA, Buckerfield JC, Michelsen P, O'Brien KA, Gupta VVSR, Doube BM. 1995. Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35,1015-1028.

- Parham JA, Deng SP. 2000. Detection, quantification and characterization of  $\beta$ -glucosaminidase activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1183-1190.
- Pérez-Piqueres A, Edel-Hermann V, Alabouvette C, Steinberg C. 2006. Response of soil microbial communities to compost amendments. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 3, 460-470.
- Roux-Michollet D, Czarnes S, Adam B, Berry D, Commeaux C, Guillaumaud N, Roux XI, Clays-Josserand A. 2008. Effects of steam disinfestation on community structure, abundance and activity of heterotrophic, denitrifying and nitrifying bacteria in an organic farming soil. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 7, 1836-1845.
- Tabatabai MA. 1982. Soil enzymes. En: Page AL, Miller, EM, Keeney DR (Eds) *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 903-947.
- Tabatabai MA, Bremner JM. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1, 301-307.
- Tabatabai MA, Bremner JM. 1970. Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Proceedings* 34, 225-229.
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703-707.
- Vargas G, Pastorb S, Marcha GJ. 2009. Quantitative isolation of biocontrol agents *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp. and actinomycetes from soil with culture media S. *Microbiological Research* 164, 196-205.
- Yi J, Wu HY, Wu J, Deng CY, Zheng R, Chao Z. 2012. Molecular phylogenetic diversity of *Bacillus* community and its temporal-spatial distribution during the swine manure of composting. *Applied Microbiology and Biotechnology* 93, 411-421.