

Biofumigación con Brassicáceas: actividad supresora sobre *Fusarium graminearum*

Perniola, Omar Salvador^{1,4}; Sebastián Staltari¹; Silvia Elena Chorzempa²; María del Carmen Molina^{1,3}

¹Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Garibaldi 3400, Llavallol, CP 1836, Buenos Aires, Argentina; ²Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ. Ruta N° 4, Km 2, Llavallol, CP 1836, Buenos Aires, Argentina; ³CONICET; ⁴omarperniola@yahoo.com.ar

Perniola, Omar Salvador; Sebastián Staltari; Silvia Elena Chorzempa; María del Carmen Molina (2012) Biofumigación con Brassicáceas: actividad supresora sobre *Fusarium graminearum*. Rev. Fac. Agron. Vol 111 (1): 48-53.

La biofumigación es una alternativa potencial al bromuro de metilo. Consiste en la incorporación en el suelo de residuos orgánicos, que generan durante su descomposición sustancias con actividad biocida. El objetivo de este trabajo fue determinar *in vitro* el efecto biofumigante de mostaza parda (*Brassica juncea* L. Czerniak) y de mostaza blanca (*Sinapis alba* L.), en el estadio de plena fructificación, sobre el crecimiento de *Fusarium graminearum* Schwabe, patógeno ampliamente difundido. Se evaluaron dos dosis de 10 y 40 g de material vegetal triturado de cada una de las especies, colocándolo en recipientes de aluminio. Sobre el material vegetal se apoyó una caja de petri con medio Nash & Snyder, que contenía en el centro un disco de 5 mm de diámetro con micelio de *F. graminearum*. Posteriormente se selló con film e incubó a 20 °C en oscuridad durante 14 días. Fin alizado este período, se midió el crecimiento radial de las colonias, y se calculó la superficie y el porcentaje de crecimiento con respecto al tratamiento control sin biofumigante. *Sinapis alba* y *B. juncea* presentaron efecto supresor del crecimiento de *F. graminearum* cultivado *in vitro* (crecimiento menor al 50% del control). No se observaron diferencias significativas entre las dosis utilizadas. Estos resultados sugieren que *B. juncea* y *S. alba* presentan potencial para inhibir el crecimiento *in vitro* de *F. graminearum*.

Palabras clave: control biológico, alternativas al bromuro de metilo, *Fusarium* spp., *Brassica*, *Sinapis*.

Perniola, Omar Salvador; Sebastián Staltari; Silvia Elena Chorzempa; María del Carmen Molina (2012) Biofumigation with *Brassicaceae*: suppressive activity on *Fusarium graminearum*. Rev. Fac. Agron. Vol 111 (1): 48-53.

Biofumigation is a potential alternative to the use of methyl bromide. It consists of the incorporation into the soil of organic debris that generates biocidal compounds during its decomposition. The aim of this study was to determine the *in vitro* biofumigant effect of brown mustard (*Brassica juncea* L. Czerniak) and white mustard (*Sinapis alba* L.), at the fructification stage, on the growth of *Fusarium graminearum* Schwabe. Two doses (10 and 40 g) of macerated plant material from each of the species studied were placed in aluminum recipients. Petri dishes with Nash & Snyder medium and a disc of 5 mm in diameter with *F. graminearum* were placed on top of the plant material. Aluminum recipients were then sealed and incubated at 20 °C in darkness for 14 days. After that, the radial growth of the colonies was measured and this value was used to calculate the surface and growth percentage with respect to the control without biofumigant. *Sinapis alba* and *B. juncea* showed suppressive growth effect on *F. graminearum* (growth less than 50% of control). No significant differences were found between doses. These results suggest that *B. juncea* and *S. alba* have potential for *in vitro* control of *F. graminearum*.

Key words: biological control, methyl bromide alternatives, *Fusarium* spp., *Brassica*, *Sinapis*.

Recibido: 09/08/2011

Aceptado: 16/08/2012

Disponible on line: 03/09/2012

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUCCIÓN

La desinfección de los suelos con productos químicos fumigantes es una práctica habitual en los establecimientos florícolas del Cinturón Verde del Gran Buenos Aires, especialmente en los cultivos bajo invernáculo. En las explotaciones de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) son frecuentes las fumigaciones del suelo con bromuro de metilo para controlar hongos fitopatógenos, entre los que se destaca por su alta patogenicidad *Fusarium graminearum* Schwabe [Teleomorfo *Gibberella zeae* (Schw.) Petch.] (O'Donnell et al., 2004), uno de los principales agentes causales de la podredumbre del tallo del clavel, que ocasiona importantes pérdidas de ramas florales y de plantas (Wolcan & Grego, 2010). *Fusarium graminearum* es un patógeno ampliamente difundido en esta zona florícola; sobrevive en el suelo en tejidos vivos y muertos, sirviendo como inóculo ascosporas, macroconidios, clamidosporas y fragmentos de micelio, siendo el rastrojo la fuente de propágulos más significativa (Bai & Shaner, 1994). Dado que *F. graminearum* es un parásito facultativo y patógeno de muchas especies, las prácticas agrícolas como la rotación con cultivos no hospedantes y la eliminación de los rastrojos no son efectivas en sí mismas (Goyal & Prasad, 2010). La desinfección del suelo con bromuro de metilo, previo a la plantación de clavel, es una de las medidas de control más empleada para evitar el ataque de *F. graminearum*.

La prohibición inminente del uso del bromuro de metilo, debido a su efecto nocivo sobre la capa de ozono, obliga a buscar alternativas para la desinfección de suelos que sean efectivas y amigables con el medio ambiente (MBTOC, 1994; Thomas, 1997; Bello et al., 1999; 2008). Una de esas alternativas es la biofumigación, que puede definirse como el control de plagas y patógenos edáficos por medio de la liberación en el suelo de compuestos, en su mayoría volátiles, originados por la descomposición de residuos orgánicos (Gimsing & Kirkegaard, 2006). Como biofumigantes se pueden emplear estiércoles, residuos de las cosechas y agroindustriales, incorporación de cultivos de Brassicáceas, sorgo, maíz, etc. A diferencia de los pesticidas químicos, como el bromuro de metilo, el metam sodio y el dazomet, la incorporación de enmiendas biofumigantes aumenta el contenido de materia orgánica del suelo, mejora la estructura y la penetración del agua, y reduce el encostramiento y la erosión (Kirkegaard & Matthiessen, 2004; Pung et al., 2008).

Según algunos autores, la biofumigación puede inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos (Kirkegaard et al., 1996; Mayton et al., 1996; Charron & Sams, 1999; Dunne et al., 2003; Zurera et al., 2007; Iriarte et al., 2011; Riches et al., 2011). Vilaseca et al. (2006) mencionan que la biofumigación puede llegar a controlar el virus del mosaico del tomate (ToMV). Otros investigadores han demostrado la eficacia de esta técnica para reducir las poblaciones de nemátodos (Pattison et al., 2003; Mitidieri et al., 2004; 2005; 2009; Kruger et al., 2011), insectos (Noble et al., 2002) o malezas (Pereyra et al., 2008).

Durante el proceso de biofumigación, como resultado de la descomposición del material orgánico, se generan

en el suelo sustancias con actividad biocida tales como amonio, ácido acético, compuestos azufrados (metanetiol, dimetil sulfuro, disulfuro de carbono, dimetil disulfuro), etc. Además, si el material en descomposición es un abono de Brassicáceas, los glucosinolatos presentes en sus tejidos (Kjaer, 1976), se hidrolizan por la acción de la enzima mirosinasa produciendo diferentes tipos de isotiocianatos, con variable grado de toxicidad frente a los hongos patógenos y otros organismos (Harding & Wicks, 2001; Gowers, 2008; Yulianti et al., 2008; Molina-Vargas & Bentura-Castellanos, 2009).

La efectividad del tratamiento biofumigante varía según la especie de Brassicácea utilizada y el estadio fenológico. Mayton et al. (1996) hallaron que plantas en floración de *Brassica juncea* L. Czerniak tenían efecto supresor sobre el crecimiento *in vitro* de *F. sambucinum* Fuckel, en cambio *Sinapis alba* L. en el mismo estadio, no lo suprimió. Zurera et al. (2007) encontraron que el estadio de fructificación en *B. nigra* (L.) Koch y *B. carinata* Braun, sería el más efectivo para inhibir el crecimiento de *Phytophthora* spp., mientras que para *B. juncea* sería el de prefloración.

El objetivo de este trabajo fue ampliar los conocimientos actuales sobre biofumigación, mediante la determinación *in vitro* del efecto biofumigante de *B. juncea* y *S. alba*, en el estadio de plena fructificación, sobre el crecimiento de *F. graminearum*, patógeno ampliamente difundido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales vegetales utilizados fueron dos especies de Brassicáceas: mostaza parda (*B. juncea*) y mostaza blanca (*S. alba*). Se sembraron en el campo experimental del Instituto Fitotécnico de Santa Catalina (IFSC), Llavallol, Argentina, en junio de 2010 y cuando los cultivos alcanzaron el estadio de plena fructificación (en octubre del mismo año), se cosechó la parte aérea. La cepa de *F. graminearum* utilizada fue la LM2010, identificada por el Centro de Referencia de Micología, Universidad Nacional de Rosario (CEREMIC - UNR) y por el IFSC.

El bioensayo realizado para determinar el efecto supresor de las Brassicáceas sobre *F. graminearum*, se basó en la metodología llevada a cabo por otros autores para probar la eficacia de fungicidas volátiles sintéticos y biofumigantes (Richardson & Munnecke, 1964; Mayton et al., 1996; Charron & Sams, 1999; Dunne et al., 2003; Zurera et al., 2007). Se cosecharon y lavaron con agua destilada estéril los dos tercios superiores de las plantas, se trituraron las hojas, inflorescencias, silicuas y tallos tiernos en una procesadora durante aproximadamente un minuto. El material triturado se colocó en recipientes de aluminio de 1000 ml, en dos dosis de 10 y 40 g.

Previamente, la cepa de *F. graminearum* se multiplicó en un medio agar papa glucosado (APG) al 2% durante siete días a 25 °C, en oscuridad. Se extrajeron discos del cultivo de 5 mm de diámetro de la parte más externa de la colonia y de activo crecimiento micelial, y se transfirieron de a uno en el centro de una caja de petri con medio de cultivo Nash & Snyder (1962).

Las cajas de petri con *F. graminearum*, se apoyaron sobre el material vegetal triturado contenido dentro de los recipientes de aluminio y se sellaron con film de PVC transparente constituyendo una unidad experimental. Para el tratamiento control se siguió la misma técnica pero no se utilizó material vegetal biofumigante.

La incubación se realizó en oscuridad, durante 14 días a 20 °C. Finalizado este período, se midió el crecimiento radial de las colonias, y se calculó la superficie y el porcentaje de crecimiento con respecto al tratamiento control sin biofumigante.

Los tratamientos se consideraron supresores cuando el crecimiento radial de la colonia fue inferior al 50% de la media del tratamiento control (Mayton et al., 1996).

Para el análisis estadístico se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con tres repeticiones por tratamiento. Los datos se evaluaron mediante un ANOVA simple y la comparación de medias con el Test de Tukey. Los datos se analizaron con el programa Statistica 7.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sinapis alba y *B. juncea* inhibieron el crecimiento de las colonias del hongo en las dos dosis utilizadas, resultando su superficie significativamente menor a la del tratamiento control ($p \text{ value} = 1,15 \times 10^{-13}$) (Tabla 1, Figuras 1 y 2).

En los tratamientos con mostaza parda y blanca, los porcentajes de crecimiento de las colonias de *F. graminearum* con respecto al control fueron inferiores al 50%, por lo que presentaron un efecto supresor sobre *F. graminearum* en las dosis evaluadas (Tabla 2, Figuras 1 y 2); no se hallaron diferencias significativas entre las especies y las dosis (Tabla 1). Esta respuesta indicaría que la dosis menor utilizada sería adecuada para ejercer un efecto supresor sobre el crecimiento *in vitro* de *F. graminearum*.

Tabla 1. Crecimiento de las colonias de *F. graminearum* en los distintos tratamientos. Los valores con letras distintas indican diferencias significativas por el test de Tukey ($p \text{ value} = 1,15 \times 10^{-13}$)

Tratamiento	Superficie media (mm ²)
<i>B. juncea</i> - 10 g	544,84 a
<i>B. juncea</i> - 40 g	597,62 a
<i>S. alba</i> - 40 g	632,15 a
<i>S. alba</i> - 10 g	678,13 a
Control	6089,91 b

Tabla 2. Actividad supresora de las Brassicáceas sobre *F. graminearum*. Superficies promedio de las colonias expresadas como porcentaje del control sin biofumigante. Efecto supresor: superficie media de las colonias inferior al 50% de la superficie media del control.

Especie	Dosis	
	10 g	40 g
<i>B. juncea</i>	8,9% efecto supresor	9,8% efecto supresor
<i>S. alba</i>	11,1% efecto supresor	10,4% efecto supresor

Los resultados referidos al efecto biofungistático de *B. juncea* coinciden con los obtenidos por otros autores que observaron reducción del crecimiento de *F. sambucinum* (Mayton et al., 1996; Larkin & Griffin, 2007), *Pythium ultimum* Trow (Charron & Sams, 1999; Larkin & Griffin, 2007), *Rhizoctonia solani* Kühn (Charron & Sams, 1999; van Os et al., 2004; Larkin & Griffin, 2007), *Phytophthora* spp. (Dunne et al., 2003; Larkin & Griffin, 2007; Zurera et al., 2007), *Verticillium dahliae* Kleb. (Debiase et al., 2008; Michel & Lazzeri, 2008), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Wr. et Rg.) Schlecht (Debiase et al., 2008), *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (Larkin & Griffin, 2007) y *Sclerotinia minor* Jagger (Daugovish et al., 2004). Dentro de las Brassicáceas, *B. juncea* es una de las mejores especies biofumigantes según los resultados obtenidos por numerosos autores.

Con respecto a *S. alba*, nuestros resultados coinciden con los obtenidos por algunos investigadores que han encontrado efecto biofungistático sobre *Sclerotinia minor* (Daugovish & Downer, 2006), *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora erythroseptica* Pethybr., *Pythium ultimum*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *F. sambucinum* (Larkin & Griffin, 2007).

Adicionalmente, en experimentos preliminares realizados en medio líquido de poroto mungo (*Phaseolus aureus* Roxb.), se observaron reducciones superiores al 95% en la concentración de conidios de *F. graminearum* cuando se empleó material vegetal triturado de *B. juncea* y *S. alba* (Staltari et al., datos no publicados, 2011). Estos resultados sugieren que el efecto biofumigante de estas mostazas, disminuye significativamente no sólo la tasa de crecimiento de las colonias de *F. graminearum* sino también la producción de estructuras fúngicas que intervienen en la dispersión e infección del patógeno.

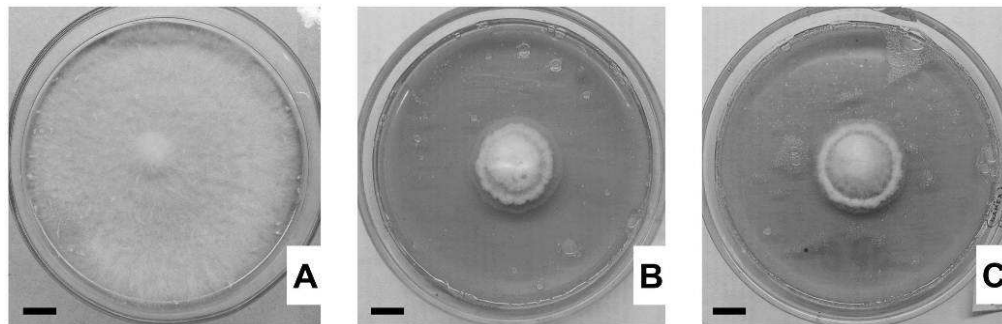


Figura 1. Crecimiento de las colonias de *F. graminearum* tratadas con *S. alba*. A: control, B: 10 g de *S. alba*, C: 40 g de *S. alba*. Escala = 1 cm.

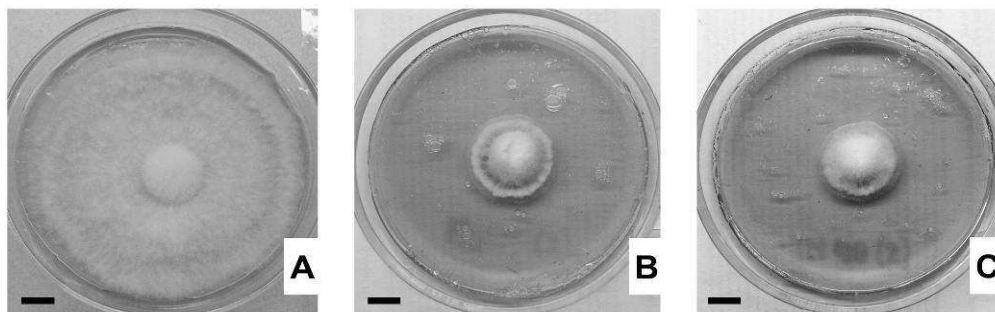


Figura 2. Crecimiento de las colonias de *F. graminearum* tratadas con *B. juncea*. A: control, B: 10 g de *B. juncea*, C: 40 g de *B. juncea*. Escala = 1 cm.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el laboratorio sugieren que *B. juncea* y *S. alba*, en el estadio de plena fructificación, son especies con potencial de utilización como biofumigantes para inhibir el crecimiento *in vitro* de *F. graminearum*, por lo tanto la biofumigación con estas Brassicáceas representaría una herramienta alternativa para el manejo integrado de las enfermedades causadas por *F. graminearum*.

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Agr. Marta Mónica Astiz Gassó por su cordial colaboración en la identificación de la cepa de *F. graminearum*.

BIBLIOGRAFÍA

Bai, G. & G. Shaner. 1994. Scab of wheat: Prospects for Control. *Plant Disease* 78(8): 760-766.
Bello, A., J.A. López-Pérez, L. Díaz-Viruliche, R. Sanz & M. Arias. 1999. Biofumigation and local resources as methyl bromide alternatives. *Proceedings of Third International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries"*. Heraclion, Creta, Grecia. p. 17.

Bello, A., I. Porter, M.A. Díez-Rojo & R. Rodríguez-Kabanas. 2008. Soil biotisation for the management of soil-borne pathogens and weeds. *Proceedings of Third International Biofumigation Symposium*. Canberra, Australia. p. 35.

Charron, C.S. & C.E. Sams. 1999. Inhibition of *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* by Shredded Leaves of *Brassica* Species. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124(5): 462-467.

Daugovish O. & J. Downer. 2006. Exploring *Brassicaceae*-derived biofumigation for soilborne pest management. *Proceedings of ASABE International Annual Meeting 2006*. Portland, Oregon, USA, paper number 067020.

Daugovish, O., J. Downer, O. Becker & G. Browne. 2004. Mustard-derived biofumigation research in Southern California. *Proceedings of First International Biofumigation Symposium*. Florence, Italy. pp. 38-39.

Debiase, G., C. Rotolo, M. Miazzi, S. Pollastro, L. Verdini, G. De Mastro & F. Faretra. 2008. Biofumigant activity of *Brassicaceae* against soil-borne fungi. *Proceedings of Third International Biofumigation Symposium*. Canberra, Australia. p. 59.

Dunne, C.P., B. Dell & G.E.S. Hardy. 2003. The effect of biofumigants on the vegetative growth of five *Phytophthora* species *in vitro*. *Acta Hort.* 602: 45-51.

Gimsing, A.L. & J.A. Kirkegaard. 2006. Glucosinolate and isothiocyanate concentration in soil following incorporation of *Brassica* biofumigants. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2255-2264.

- Goyal, A. & R. Prasad.** 2010. Some important fungal diseases and their impact to wheat production. En: Management of fungal plant pathogens. A. Arya & A.E. Perelló (eds.). CABI Publishing, Oxfordshire. pp. 362-374.
- Gowers, S.** 2008. Selection of *B. napus* and *B. rapa* lines for biofumigation potential. Proceedings of Third International Biofumigation Symposium. Canberra, Australia. p. 79.
- Harding, R.B. & T.J. Wicks.** 2001. Effects of incorporating *Brassica* and cereal cover crop residues on soil populations of *Verticillium dahliae*. Proceedings of Second Soilborne Diseases Conference. Lorne, Victoria. pp. 148-149.
- Iriarte, L.E., M.C. Sosa & G.E. Reybet.** 2011. Efecto de la biofumigación con repollo sobre el control de *Fusarium oxysporum* en suelo. RIA 37(3): 231-237.
- Kirkegaard, J.A. & J.N. Matthiessen.** 2004. Developing and refining the biofumigation concept. Proceedings of First International Biofumigation Symposium. Florence, Italy. pp. 3-4.
- Kirkegaard, J.A., P.T.W. Wong & J.M. Desmarchelier.** 1996. In vitro supression of fungal root pathogens of cereals by *Brassica* tissues. Plant Pathol. 45: 593-603.
- Kjaer, A.** 1976. Glucosinolates in cruciferae. En: The Biology and Chemistry of the Cruciferae. Academic Press, London. pp. 207-219.
- Kruger, N., J. Fourie & A. Malan.** 2011. The role of cover crops in supressing plant-parasitic nematodes in vineyards. Proceedings of Biofumigation & Biopesticides Symposium. Saskatoon, Canada. p. 63.
- Larkin, R.P. & T.S. Griffin.** 2007. Control of soilborne potato diseases using *Brassica* green manures. Crop Protection 26(7): 1067-1077.
- Mayton, H.S., C. Olivier, S.F. Vaughn & R. Loria.** 1996. Correlation of fungicidal activity of *Brassica* especies with allyl-isothiocyanate production in macerated leaf tissue. Phytopathology 86: 267-271.
- MBTOC (Methyl Bromide Technical Options Committee).** 1994. Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. Montreal Protocol on substances that deplete the ozone layer. UNEP, Kenya. 304 pp.
- Michel, V.V. & L. Lazzeri.** 2008. Biofumigation to control *Verticillium* wilt influenced by plant species and soil types. Proceedings of Third International Biofumigation Symposium. Canberra, Australia. p. 62.
- Mitidieri, M.S., M.V. Brambilla, A.L. Polack, K.C. Del Pardo, A. Constantino, E. Chaves, A.J. Curá, C.M. Ribaud, G.C. Sarti, L. Maldonado & A.T. Amma.** 2004. Aumentos en el rendimiento como consecuencia de la aplicación de solarización y biofumigación en cultivo de tomate bajo cubierta. XXVII Congreso Argentino de Horticultura. Merlo, San Luis, Argentina.
- Mitidieri, M.S., M.V. Brambilla, J. Gabilondo, V. Saliva & M. Piris.** 2005. Efectos de la solarización y biofumigación sobre la incidencia de podredumbres radicales en cultivo de tomate bajo cubierta. XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. p. 519.
- Mitidieri, M., V. Brambilla, V. Saliva, E. Piris, M. Piris, R. Celié, C. Pereyra, K. Del Pardo, E. Chaves & J. González.** 2009. Efecto de distintas secuencias de tratamientos de biofumigación sobre parámetros fisicoquímicos y biológicos del suelo, el rendimiento y la salinidad de cultivos de tomate y lechuga bajo cubierta. Horticultura Argentina 28(67): 5-17.
- Molina-Vargas, L.F. & J.U. Bentura-Castellanos.** 2009. Efecto inhibitorio *in vitro* de cinco isotiocianatos sobre *Rhizoctonia solani* Kühn AG-3. Revista de Investigación Agraria y Ambiental: 37-40.
- Nash, S.M. & W.C. Snyder.** 1962. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. Phytopathology 52: 567-572.
- Noble, R.R.P., S.G. Harvey & C.E. Sams.** 2002. Toxicity of Indian mustard and allyl isothiocyanate to masked chafer beetle larvae. Plant Health Progress (Online). Disponible en: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/chafer/> (último acceso: Mayo de 2011).
- O'Donnell, K., T.J. Ward, D.M. Geiser, H.C. Kistler & T. Aoki.** 2004. Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. Fungal Genet. Biol. 41: 600-623.
- van Os, G.J., V. Bijman, M. de Boer, S. Breeuwsma, J. van der Bent & L. Lazzeri.** 2004. Biofumigation against soilborne fungal diseases in flower bulbs. Proceedings of First International Biofumigation Symposium. Florence, Italy. pp. 21-22.
- Pattison, T., T. Martin, S. Akiew, C. Versteeg & J. Kirkegaard.** 2003. Can Brassicas be used to manage root-knot nematode in tropical vegetal production? Australasian Nematology Newsletter 14(2): 16-19.
- Pereyra, S.M., A. de L. Avila & E. Orecchia.** 2008. La biofumigación y el metam sodio como alternativas al uso de bromuro de metilo. Efecto sobre el control de malezas y las características químicas del suelo. Agriscientia XXV(2): 75-79.
- Pung, H., S. Cross & D. Patten.** 2008. The use of biofumigant green manure crops for soil-borne disease management in Tasmania. Proceedings of Third International Biofumigation Symposium. Canberra, Australia. p. 26.
- Richardson, L.T. & D.E. Munnecke.** 1964. A bioassay for volatile toxicants from fungicides in soil. Phytopathology 54: 836-839.
- Riches, D., O.N. Villalta, D. Wite, J. Kirkegaard, S.W. Mattner, C.A. Scoble, E.C. Donald & I.J. Porter.** 2011. *In vitro* antifungal activity of volatiles from biofumigant brassicas against soilborne pathogens of vegetables. Proceedings of Biofumigation & Biopesticides Symposium. Saskatoon, Canada. p. 69.
- Thomas W.** 1997. Impacto ambiental de bromuro de metilo. En: Alternativas al Bromuro de Metilo en Agricultura. A. Bello, J.A. Gonzáles, J. Pérez Parra & J. Tello (eds.). Junta Andalucía, Sevilla, España. pp. 13-18.
- Vilaseca, J.C., M.I. Font & C. Jordá.** 2006. Biofumigación y Biosolarización en el control del ToMV: una buena alternativa al bromuro de metilo. Agroecología: 105-115.
- Wolcan, S. & P. Grego.** 2010. Enfermedades de *Dianthus caryophyllus* L. (clavel). En: Atlas Fitopatológico Argentino. Vol. 4, Nº 1. Marzo 2011. Eds: S.F. Nome, D.M. Docampo, L.R. Conci & S. Wolcan. Disponible en:

<http://www.fitopatoatlas.org.ar/default.asp?hospedante=289> (último acceso: Mayo de 2011)

Yulianti, T., K. Sivasithamparam & D.W. Turner. 2008. Incorporation of *Brassica nigra* and *Diplotaxis tenuifolia* residues and incubation under different soil conditions affects the survival of *Rhizoctonia solani* AG2-1 (ZG5), the causal agent of damping off of canola

differently. Proceedings of Third International Biofumigation Symposium. Canberra, Australia. p. 70.

Zurera C., E. Romero, M. Porras, C. Barrau & F. Romero. 2007. Efecto biofumigante de especies de Brassica en el crecimiento de *Phytophthora* spp. *in vitro*. XI Congreso Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. Albacete, España. Actas de Horticultura 48: 306-309.