

BIOFUMIGACIÓN Y SOLARIZACIÓN COMO ALTERNATIVAS AL BROMURO DE METILO

A. BELLO, J.A. LÓPEZ-PÉREZ, L. DÍAZ VIRULICHE
Dpto Agroecología, CCMA, CSIC. Serrano 115 dpdo 28006 Madrid.
antonio.bello@ccma.csic.es

Resumen. Se estudia la acción de los gases producidos en la descomposición de la materia orgánica para el control de nematodos y otros patógenos de origen edáfico. Su eficacia es similar a la de los fumigantes convencionales. Se diferencia de la solarización en que no requiere temperaturas superiores a los 30 °C, por lo que puede aplicarse en cualquier estación del año, en áreas donde existen bajas temperatura y en cultivos extensivos. Por otro lado, la biofumigación actúa en profundidad resolviendo problemas, como en el caso de los nematodos, de dinámica vertical, que son comunes en los organismos móviles y que tienen lugar al aumentar la temperatura del suelo como ocurre con las técnicas de solarización. Los resultados de la aplicación de la biofumigación en cultivos extensivos son efectivos en condiciones de bajas temperaturas y sin aplicación de cubiertas de plástico, a diferencia de la solarización, aunque ambas técnicas pueden ser complementarias, e incrementar su eficacia, en el caso de los nematodos fitoparásitos, cuando se aplican conjuntamente.

INTRODUCCIÓN

Los investigadores y técnicos en agricultura se están enfrentado a uno de los mayores retos de los últimos años, el de encontrar alternativas al bromuro de metilo (BM) para controlar plagas y enfermedades de las plantas. La alternativa que se proponga debe tener eficacia similar al BM, no impactar sobre el medio ambiente, ser económica y socialmente viable, características que no han sido hasta ahora exigidas a ningún otro pesticida. El BM es un biocida que destaca por su amplio espectro de acción frente a los patógenos de los vegetales, así como su alta efectividad en cuanto a penetración y difusión en el suelo, incluso en aquéllos que presentan contenidos de humedad y temperatura altos. Sin embargo, el BM no se retiene en su totalidad en el suelo, sino que del 50 al 95 % pasa en forma de emisiones gaseosas a la estratosfera, donde se liberan átomos de bromo que reaccionan con el ozono y otras moléculas estables que contienen cloro, dando lugar a una reacción en cadena que contribuye a la disminución de la capa de ozono, incrementando la emisión de rayos ultravioletas con los consecuentes riesgos para la salud y el medio ambiente (Thomas 1997).

La evidencia científica de la destrucción de la capa de ozono por el BM, dio lugar a la toma de decisiones que contribuyesen a la retirada de este producto, apoyándose en acciones reguladoras (UNEP 1992). Así, algunos países del norte de Europa han eliminado el uso del BM, como es el caso de Dinamarca, mediante los cultivos sin suelo (Gyldenkaerne, Yohalem y Hvahøe 1997). Por todo ello, la Unión Europea (UE) ha propuesto la congelación del consumo de BM, a los niveles de 1991 para los años 1995-1997 y la reducción de su consumo desde 1998 en un 25 %. La 10ª Reunión del Protocolo de Montreal estableció, para los países desarrollados, un programa en el que se acordó la reducción, de forma gradual, de los usos agrícolas del BM, hasta llegar a su eliminación total para el año 2005 y para países del Artículo 5º su eliminación en el año 2015, con una posible revisión para la modificación de la fecha en el 2003. En la UE, además, ha elaborado un proyecto de modificación del actual Reglamento en el que se intenta adelantar para el año 2001 la situación final del BM, aunque las últimas decisiones mantienen el 2005 como fecha límite, se eliminará el 60% en el 2001 y el 75% en el 2003 (Tierney 1998, 2000). Otros países como Argentina, Brasil, China, Cuba, Guatemala, Marruecos y Uruguay están elaborando proyectos de investigación demostrativos para su eliminación total. Respecto a las alternativas al BM, no existe un único sustituto para todos los usos de este fumigante del suelo, ya que dependen del organismo patógeno, cultivo y de la zona, siendo la mejor alternativa los programas de manejo integrado de cultivos "Integrated Crop Management" (ICM). Para ello, es importante que las distintas alternativas regulen de forma eficaz y económica los patógenos controlados actualmente por el BM, garantizando su viabilidad a largo plazo, Slooteen (1997).

En cuanto al uso de BM en los países con clima mediterráneo, se estima en alrededor de 24.239 t al año, lo que suponen el 47.6 % del consumo total, para la fumigación de suelos, siendo España, después de Italia, el segundo país en consumo (11,7 %) (Fig. 1)(Bello y Tello 1998, Varés 1998). Actualmente en España la situación es muy diferente debido a la política de reducción elaborada por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). Por otro lado, se ha demostrado que puede reducirse hasta el 50 % la utilización de pesticidas mediante métodos alternativos con un incremento de sólo el 0,6 % de los gastos de producción (Pimentel *et al.* 1993).

La primera impresión sobre la eliminación del BM fue muy pesimista y, sobre todo, sobre nuestro futuro, puesto que la agricultura y la capa de ozono son fundamentales para la supervivencia del planeta. Un

análisis posterior nos llevó a la conclusión de que el uso de BM en agricultura así como los problemas fitopatológicos son la excepción y no la norma, la inmensa mayoría de cultivos no usan BM (Bello *et al.* 1994, 1996; Bello, Escuer y Pastrana 1995; Barker y Koenning 1998). Curiosamente el BM sólo afecta a los cultivos que se han definido como paradigma de una agricultura moderna, que está localizada principalmente en California, Florida, España, Japón, Israel e Italia.

Entre los organismos parásitos de plantas que se ven afectados por la retirada del BM, se encuentran fundamentalmente varias especies de hongos, los nematodos pertenecientes a los géneros *Meloidogyne* y *Rotylenchulus*, además de los problemas de replantación, especialmente en frutales.

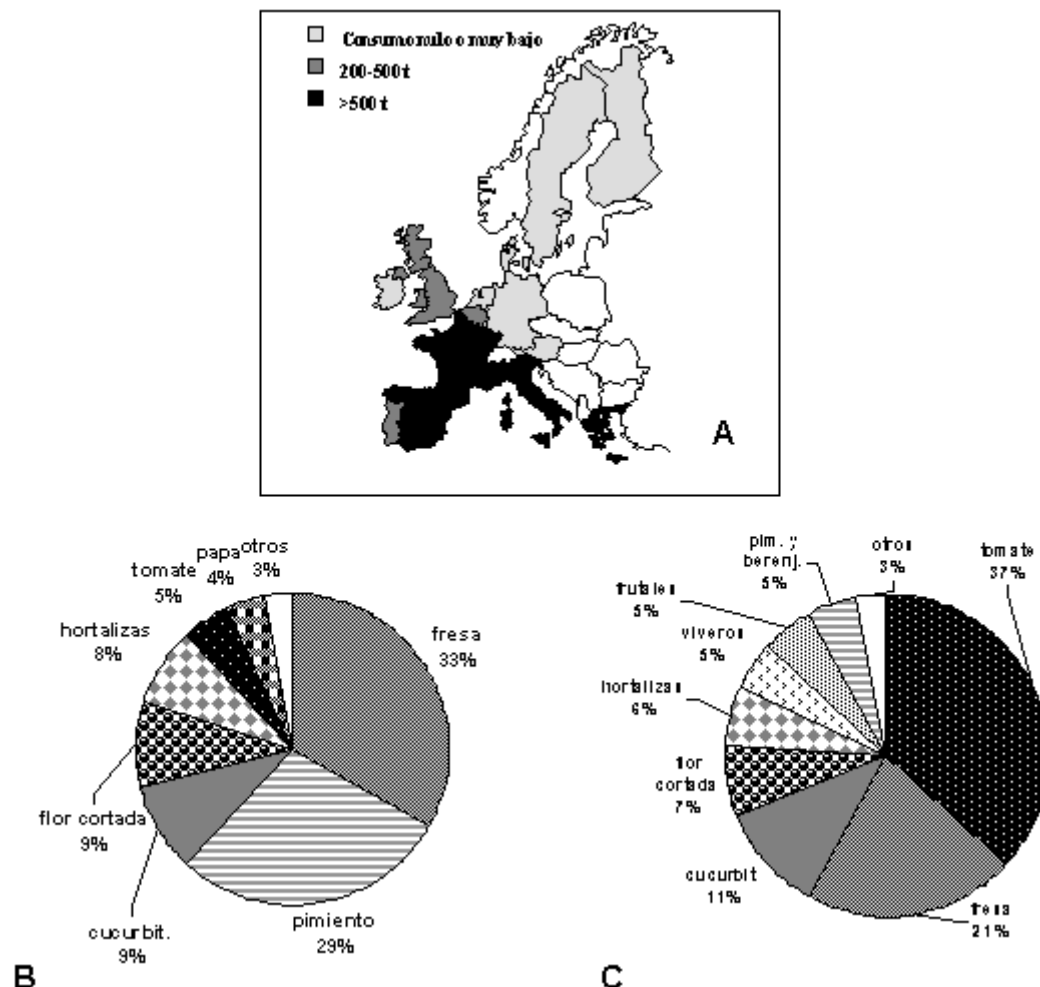


Figura 1. Consumo anual de BM en la UE por países [A] y en España [B] y la UE [C] por cultivos

Es necesario el uso de criterios ecológicos en agricultura que permitan conocer cuáles son los elementos y procesos claves en el funcionamiento de los agrosistemas. En relación con el BM hemos elegido la función de la materia orgánica a través de los procesos de degradación que producen gases capaces de controlar los patógenos de los vegetales. Este proceso ha sido definido como **biofumigación** (Kirkegaard *et al.* 1993b; Bello 1998) y ha sido incluido como una alternativa no química al BM por el "Methyl Bromide Technical Comitte (MBTOC 1997), perteneciente al Protocolo de Montreal, ampliando a todas las materias orgánicas y residuos agroindustriales el anterior concepto de biofumigación que se aplicaba sólo a la emisión de isotiocyanatos durante los procesos de descomposición de las brassicas y su efecto fungicida e insecticida (Kirkegaard *et al.* 1993a, b; Matthiesen y Kirkegaard 1993; Angus *et al.* 1994). Por otro lado, Stirling (1991), en una revisión sobre el control biológico de los nematodos parásitos de plantas, señala la importancia de la materia orgánica no solo por mejorar la fertilidad y estructura del suelo, sino también por su efecto tóxico sobre los nematodos fitoparásitos.

BASES CIENTÍFICAS DE LA BIOFUMIGACIÓN

El concepto "Biological fumigation" fue utilizado por Kirkegaard *et al.* (1993a), empleando el término **biofumigación** en Kirkegaard *et al.* (1993b) y Matthiessen y Kirkegaard (1993) y apareció por primera vez en una revista internacional en Angus *et al.* (1994). Recientemente Kirkegaard y Sarwar (1998) definen la

biofumigación como: "*the suppression of soil-borne pest and pathogen by brassica rotation or green manure crops*" (Angus *et al.* 1994; Kirkegaard *et al.* 1993a, b).

La **biofumigación** utiliza los gases y otros productos resultantes de la biodegradación de las enmiendas orgánicas y residuos agroindustriales como fumigantes para el control de los organismos patógenos de vegetales, se contribuye con ello, además, a resolver los problemas ambientales graves que estos productos pueden producir. Su eficacia se incrementa cuando se incorpora dentro de un sistema de manejo integrado de cultivos (Bello 1998) y se diferencia del uso de las enmiendas orgánicas en las características de los materiales biofumigantes y en el método de aplicación (Bello *et al.* 1999b). Esta técnica puede ser de gran interés en países en vías de desarrollo debido al bajo coste y facilidad de aplicación (MBTOC 1998). Bello *et al.* (1999b, 2000a,b,c) definen la biofumigación como "la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de las plantas, incrementándose su eficacia cuando se incluyen en un sistema integrado de producción de cultivos"; presentan resultados de su aplicación en cultivos de cucurbitáceas, pimientos, zanahoria, tomate, otras hortalizas, fresón, platanera, cítricos, frutales, viñedos y flor cortada en diferentes ambientes de la región mediterránea, obteniendo una eficacia similar a los pesticidas convencionales, al mismo tiempo que incrementan los nematodos saprófagos, mejoran las características del suelo y la nutrición de la planta, señalando la necesidad de diseñar una metodología para cada situación, diferenciándose de la aplicación de la materia orgánica en la dosis y el método de aplicación.

Fernández, Rodríguez-Kábana y Kloepper (2000) analizan el valor de los enzimas del suelo para determinar la capacidad de los microorganismos en la supresión de los patógenos de plantas, señalando que los contenidos de ureasa y quitinasa están inversamente correlacionados con el número de nódulos de *M. arenaria* y que la aplicación de compost incrementa las poblaciones de bacterias y la actividad enzimática (ureasa, proteasa, quitinasa, catalasa y la hidrólisis de diacetato de fluoresceína). Calderón *et al.* (2000) señalan que la biofumigación se encuentra entre las mejores alternativas al BM en cultivos de tomate y brásica en Guatemala. Hewlett y Dickson (2000) señalan que los nematodos formadores de nódulos (*M. arenaria* y *M. javanica*) pueden ser controlados con la aplicación de taninos. Bello *et al.* (2000c) definen la biofumigación, indicando que su eficacia es similar a la de los pesticidas convencionales, y aunque la técnica es diferente a la solarización, se pueden complementar incrementando su eficacia.

Biofumigación y materia orgánica

La acción de los microorganismos sobre la materia orgánica durante su descomposición produce gran cantidad de productos químicos que pueden actuar en el control de los patógenos del suelo. El amonio, nitratos, sulfídrico y un gran número de sustancias volátiles y ácidos orgánicos pueden producir una acción nematicida directa o afectar a la eclosión de los huevos o la movilidad de los juveniles de nematodos; los fenoles y los taninos son también nematicidas a ciertas concentraciones (Mian *et al.* 1982; Mian y Rodríguez-Kábana 1982 a,b), por ello es difícil determinar con exactitud qué sustancia es responsable de la muerte de los nematodos.

De todos los productos químicos, obtenidos en la descomposición de la materia orgánica por la actividad de los microorganismos, que pueden tener acción nematicida, el amonio ha sido el mejor estudiado, aunque es difícil afirmar que un solo componente sea responsable de la mortalidad de los nematodos. La actividad nematicida del amonio fue reconocida por Eno, Blue y Good (1955), cuando realizaban una serie de trabajos sobre el empleo de amoniaco anhidro como fertilizante nitrogenado, al comprobar que aplicado por inyección a la concentración de 300-900 mg kg⁻¹ de suelo reducía los problemas de nematodos. Experimentos posteriores con urea, que se convierte en amonio por acción de la ureasa existente en el suelo, muestran que es un buen nematicida si se aplica en cantidades superiores a 300 mg de N kg⁻¹ de suelo (Huebner, Rodríguez-Kábana y Patterson 1983).

El contenido de N no es el único factor considerado cuando la materia orgánica es utilizada como nematicida, el carbono es también importante, puesto que de él depende la metabolización del nitrógeno por los microorganismos para convertirlo en proteína y otros compuestos. En ausencia de fuentes de carbono, el amonio y los nitratos se pueden acumular y causar fitotoxicidad. Materiales como quitina, urea, algunas tortas de oleaginosas y nim tienen una relación C/N baja, pudiendo afectar a las plantas. Se ha demostrado que la materia orgánica con una relación C/N entre 8-20 tiene actividad nematicida sin efecto fitotóxico (Rodríguez-Kábana, Morgah-Jones y Chet 1987).

El efecto nematicida tiende a ser limitado a la zona de incorporación, puesto que el amonio tiene una difusión pobre en el suelo y se mueve sólo unos pocos centímetros desde el punto de aplicación (Eno, Blue y Goog 1955). El pH del suelo tiene también efecto sobre la eficacia del amonio, altas concentraciones de amonio son más activas en suelos ácidos que en alcalinos (Duplessis y Kroontje 1964). Por otro lado, las dosis efectivas de nitrógeno para el control de nematodos pueden ser fitotóxicas o contribuir a la contaminación de las aguas subterráneas (Stapleton, de Vay y Lear 1989).

La cutícula de los nematodos está constituida en material proteico con una capa de lipoproteínas y la principal estructura de la cubierta del huevo es quitina, las enzimas de mayor interés son las enzimas proteolíticas y quitinolíticas. La actividad de la quitinasa aumenta cuando se añaden al suelo enmiendas que contienen quitina y las bacterias quitinolíticas tienen capacidad de destruir la cubierta de los huevos de los nematodos formadores de nódulos (Parker, Haywards y Stirling 1988). Galper *et al.* (1991) indican que la adición de colágeno estimula el desarrollo de las enzimas que actúan sobre la cutícula de los nematodos.

La quitina es uno de los polisacáridos más frecuentes en la naturaleza, es tan abundante como la celulosa en los residuos de fermentación industrial (Gooday 1990). Se ha demostrado el efecto nematocida de la quitina cuando se aplica en la proporción del 1% (Culbreath, Rodríguez-Kábana y Morgah-Jones 1985); su acción se debe principalmente a la producción de amonio durante el proceso de descomposición. La quitina es un material que contiene nitrógeno y se degrada por hidrólisis, convirtiéndose en ácido acético y glucosamina, que libera amonio. Uno de los problemas es su fitotoxicidad, que se puede resolver añadiendo hemicelulosa y paja, que inmovilizan el exceso de nitrógeno. También se considera que estimula el desarrollo de la microflora antagonista, incrementando los actinomicetos.

La adición de materia orgánica al suelo para mejorar la fertilidad y controlar las plagas y enfermedades es una práctica casi tan antigua como la agricultura. Se han ensayado una amplia variedad de materiales como enmiendas al suelo para controlar nematodos, hongos fitoparásitos y flora arvense. Estos materiales incluyen estiércol de ganado, residuos de industrias papeleras y forestales, de industrias pesqueras y de marisqueras, numerosos subproductos de agricultura, alimentación y otras industrias, así como residuos de plantas con compuestos alelopáticos (Hoitink 1988; Stirling 1991; Bello 1997; Bello *et al.* 1999a,b, 2000b).

Se han ensayado como enmiendas al suelo, para el control de nematodos y otros patógenos de plantas, materiales con alto contenido en nitrógeno que generan amoníaco que actúa como un nematocida en el suelo (Canullo, Rodríguez-Kábana y Kloepper 1992a,b). La adición de quitina o materiales quitinosos al suelo no sólo genera amoníaco sino también estimula las actividades de la microflora quitinolítica en el suelo (Rodríguez-Kábana, Boube y Young 1990). Muchos microorganismos quitinolíticos son efectivos en la destrucción de huevos de nematodos y micelios de algunos hongos fitopatógenos. Estos tratamientos pueden contribuir al control de enfermedades de origen edáfico particularmente cuando se combinan con otras alternativas, por ejemplo, se ha estudiado la adición al suelo de enmiendas complementadas con solarización y ofrece un potencial considerable de incremento de la eficacia de las enmiendas contra los patógenos con reducción de las cantidades necesarias de materia orgánica por hectárea (Gamliel y Stapleton 1993).

El mayor problema en el uso de enmiendas orgánicas es la heterogeneidad en la composición de las materias utilizadas para su preparación (Stirling 1991). La normalización de la composición de las enmiendas, control de calidad, es un área de desarrollo que requiere una metodología apropiada. Algunas enmiendas orgánicas tienen el potencial para acumular compuestos perjudiciales y aumentar el nivel de inóculo de algunos patógenos edáficos (Rodríguez-Kábana 1986).

Los nematodos fitoparásitos, por ejemplo, se ven afectados por el uso de urea y de otras fuentes de nitrógeno amoniacal. Las fuentes de nitrógeno amoniacal como amoníaco, carbonato amónico y bicarbonato amónico pueden reducir los efectos producidos por *Sclerotinia rolfii* en zanahoria y otros cultivos (Punja 1985). En algunos casos, solamente se precisa un cambio de pH para reducir algunas enfermedades del suelo (Cook y Baker 1983). En Florida Kim, Nemeck y Musson (1996a,b) estudian el compost y la materia orgánica como alternativa al control de *Phytophthora capsici* en cultivo de pimiento, encontrando que Quitosan, un producto que contiene residuos de crustáceos y pulpa de cítricos con melaza, era efectivo en el control de la enfermedad, incrementado la actividad biológica del suelo, pudiendo actuar como una alternativa al BM, debido a la producción de lacasas y peroxidasas, y la acumulación de β 1,3-glucanasa, fenoles y la actividad sinérgica entre β 1,3-glucanasa y quitinasa. Hoitink (1997) analiza las dificultades que plantea la utilización de compost como alternativa al BM, señalando que el primer aspecto es la eliminación de organismos patógenos y malas hierbas, para ello se deben alcanzar temperaturas superiores a 67 °C durante varios días, en segundo lugar puede causar fitotoxicidad debido a la producción de ácidos orgánicos volátiles como ácido acético, amonio u otros compuestos tóxicos, por otro lado las altas temperaturas destruyen los agentes de biocontrol, micorrizas y bacterias promotoras del crecimiento, aunque se puede recuperar fácilmente a partir de la base del compost que tiene temperaturas más bajas, se pueden crear problemas de salinidad del suelo debido al sodio en el estiércol de vaca, por lo que se debe aplicar varios meses antes de plantar, los compost con alto contenido de nitrógeno como estiércol y gallinaza puede favorecer enfermedades foliares; y también pueden crear problemas los compost con contenido de potasio superior a 1%, que pueden causar problemas de salinidad, en definitiva cada tipo de compost tiene su propia problemática que debe ser considerada antes de aplicarse. Tenuta, Hobbs y Lazarovits (1997) estudian los mecanismos asociados con el control de organismos patógenos con materia orgánica, indicando que está asociada al NH_3 , que se

mantiene durante 4 días en suelos arenosos y en los arcillosos se mantiene el 60%. Allen *et al.* (1997) encuentran que la anaerobiosis creada por inundación en combinación con compost durante 12 semanas controla *Meloidogyne arenaria* en hortalizas en Florida, demostrando que los nematodos no sobreviven después de dos semanas de anaerobiosis. Díaz-Viruliche *et al.* (2000) estudian el efecto biofumigante de diferentes abonos verdes de plantas representativas de crucíferas, cucurbitáceas, gramíneas y leguminosas, encontrando una eficacia superior al 90 % en el control de *M. incognita*, estudiando el efecto biomejorador de los biominerales encontrados en las plantas estudiadas.

Biofumigación y control de nematodos

La mayoría de las publicaciones existentes sobre la aplicación de la biofumigación propiamente dicha en el control de nematodos fitoparásitos corresponden a nuestro equipo de Nematología Agraria (Bello *et al.* 2000). Por otra parte, existe gran número de excelentes trabajos sobre el empleo de enmiendas orgánicas, abonos verdes y residuos agroindustriales, especialmente en países como Egipto, India y Pakistán, así como de modo aislado en Latinoamérica.

En el Congreso de la Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos (ONTA), que tuvo lugar en San Juan de Puerto Rico en junio de 1999, aparecen por primera vez algunas comunicaciones, que pueden considerarse con enfoque científico, que entran dentro de los conceptos que hemos planteado sobre biofumigación. Así Rodríguez-Kábana (1999) presenta un biofumigante, que está en fase de patentar, que controla *M. incognita* y flora arvense; Bello, Escuer y Tello (1999) aplican con eficacia la biofumigación en el control de *M. incognita* y *Rotylenchulus reniformis* en Guatemala; Arias *et al.* (1999), al estudiar las alternativas al BM en una rotación pepino-acelga en invernaderos de la Comunidad de Madrid, afectada fundamentalmente por *M. incognita*, utilizan compost de champiñón (5 kg m⁻²), observando una disminución de las poblaciones del nematodo y un incremento de la producción en las parcelas con tratamiento de compost; Bello *et al.* (1999a) señalan la eficacia del empleo de la biofumigación en el control de nematodos en Guatemala y Uruguay; Quiroga-Madrigal *et al.* (1999) estudian el efecto de canavalia, crotalaria y mucuna sobre la actividad enzimática del suelo; Rubiano-Rodríguez y Vargas-Ayala (1999) utilizan *Mucuna deeringiana* en el control de *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Radopholus* en Puerto Rico.

Biofumigación y control de hongos

Destacan principalmente los trabajos que, bajo el término de *biofumigación*, han venido realizando investigadores del CSIRO de Australia desde 1993 para el control de hongos, puesto que la bibliografía sobre la función de la materia orgánica, los abonos verdes y los residuos agroindustriales y su relación con los hongos del suelo es muy abundante y, por lo general, los trabajos no han sido realizados teniendo en cuenta su efecto biofumigante. Papavizas y Davey (1960) observan que abonos verdes de trigo, maíz, avena, guisante y pastos de Sudán controlan *Rhizoctonia solani* en judías. Chan y Close (1987) encuentran que la incorporación de crucíferas al suelo inhiben el desarrollo del hongo *Aphanomyces* en guisante, aunque no determinan las sustancias responsables. Kirkegaard *et al.* (1993a,b), Angus *et al.* (1994) y Kirkegaard *et al.* (1994) demuestran que las sustancias volátiles de las brasicas inhiben el crecimiento del hongo del trigo *Gaeumannomyces graminis*, demostrando que el efecto biofumigante se debe a los isotiocianatos. Walia, Mehta y Gupta (1994) estudian el efecto de los residuos del nim (*Azadirachta indica*) y del bambú (*Leucaena leucocephala*) en el control de *M. incognita* que, reduce sus poblaciones, y el nim además las de los hongos *Rhizoctonia bataticola* y *R. solani*. Oliveira *et al.* (1996) encuentran que fracciones proteicas obtenidas de *Cannavalia ensiformis* inhiben el crecimiento de los hongos *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum gloesporioides* y *Sclerotium rolfsii*. Vulsteke *et al.* (1996) señalan el interés del abono verde en el control de *Pythium violae* en zanahoria en Bélgica, considerándolo responsable del "cavity spot" de la remolacha. Candole y Rothrock (1997) encuentran que el abono verde de *Vicia villosa* en un cultivo de algodón reduce a *Thielaviopsis basicola* encontrando, en estudios *in vitro* y en campo, que la supresión se debe a un producto volátil, el amonio, que se produce a los 3-7 días después de la incorporación, siendo más sensible al amonio *T. basicola* que *Rhizoctonia solani* o *Pythium ultimum*. García y Poot (1997) utilizan estiércol de vaca en el control de las enfermedades del aguacate en México. Kirkegaard y Sarwar (1998) revisan la biofumigación con abonos verdes de brasicas, definiéndola como: "la supresión de organismos del suelo patógenos de plantas y otros patógenos por compuestos biocidas originados de la hidrólisis de los glucosinolatos producidos durante la descomposición de los abonos verdes de brasicas". El efecto de las brasicas en el control de los organismos patógenos ha sido revisado por Brown y Morra (1997) y Rose, Heaney y Fenwick (1997). El término biofumigación ha sido empleado muy recientemente para la supresión de los organismos patógenos de los vegetales con rotación o abonos verdes de brasicas (Kirkegaard *et al.* 1993; Angus *et al.* 1994) y su interés va en aumento en horticultura ante la retirada de varios pesticidas de síntesis y fumigantes del suelo como el bromuro de metilo. Se ha encontrado en cereales que con residuos de *Brassica napus* y *B. juncea* se controlan los hongos del suelo (Angus, van Herwaarden y Howe 1991; Kirkegaard, Wong y Desmachelier 1996; Sarwar y Kirkegaard 1998; Sarwar *et al.* 1998); señalan que la eficacia de la biofumigación depende de varios factores, pero fundamentalmente de la brasicas empleada,

pero además de la eficacia en la incorporación de los abonos verdes, la actividad enzimática de la mirosinasa que es responsable de la hidrólisis de los glucosinolatos, a las pérdidas por volatilización, la absorción por la arcilla, la pérdida por percolación y la degradación microbiana (Brown y Morra 1997). Sarwar y Kirkegaard (1998) estudian las implicaciones del ambiente en la biofumigación, encontrando que es eficaz a 12 - 20 °C en invernadero, que el contenido de glucosinolatos aparece relativamente constante a las diferentes condiciones ambientales y estados de crecimiento de la planta, disminuyendo el contenido desde el inicio de la floración, no encontrándose grandes diferencias entre las raíces y la parte aérea, la excepción fue que *Brassica campestris* tiene una mayor cantidad de glucosinolatos durante la floración. Se observa que la incidencia del ambiente sobre el desarrollo fenológico y la producción de biomasa puede interferir en la eficacia de la biofumigación, de ahí la importancia de conocer la influencia del ambiente.

El abono verde de brasicas se ha considerado supresor de organismos productores de plagas y enfermedades cuando se incorpora al suelo (Chan y Close 1987; Mojtahedi *et al.* 1991). Este efecto se atribuye por lo general a compuestos biocidas como los glucosinolatos, que por hidrólisis dan lugar a sustancias como isotiocianatos, que se han considerado como los productos más tóxicos (Brown y Morra 1997; Rose, Heaney y Fenwick 1997). El término biofumigación es un concepto de uso reciente en el control de los patógenos vegetales con abonos verdes de brasicas (Kirkegaard *et al.* 1993; Angus *et al.* 1994) y se considera una alternativa al BM y dibromide etileno en la supresión de hongos patógenos (Kirkegaard, Wong y Desmarchelier 1996). Se ha encontrado que las condiciones climáticas, edáficas y bióticas influyen en la concentración de glucosinolatos (Rose, Heaney y Fenwick 1997), aunque hay que tener en cuenta que la luminosidad y temperatura influyen en la fenología de la planta y en la producción de biomasa (Nanda *et al.* 1996). Kirkegaard y Sarwar (1998) señalan que el período óptimo es a la mitad de la floración y estudia 76 variedades y especies diferentes de *Brassica*. Estos resultados de máxima concentración coinciden con la época de floración, habiendo sido obtenidos por Fieldsend y Milford (1994). Sarwar *et al.* (1998) investigan el efecto de la biofumigación con brasicas sobre el crecimiento de 5 patógenos de los cereales: *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana* y *Pythium irregulare*. De ellos, *Gaeumannomyces* es el más sensible a los tratamientos, seguido por *Rhizoctonia* y *Fusarium*, siendo *Bipolaris* y *Pythium* los menos sensibles. Se demuestra así el efecto en el control de hongos de los cereales.

Las brasicas contienen compuestos conocidos como glucosinolatos (Kjaer 1976) que cuando se hidrolizan por la acción del enzima mirosinasa dan lugar a isotiocianatos. Los resultados de la hidrólisis dependen de las condiciones ambientales (Rosa, Heaney y Fenwick 1997), los glucosinolatos son inactivos contra microorganismos, pero los productos de hidrólisis son biocidas muy eficaces contra nematodos, bacterias, hongos, insectos y la germinación de semillas (Brown y Morra 1997; Rosa, Heaney y Fenwick 1997; Smolinska *et al.* 1997). Como la mayoría son volátiles (Kirkegaard, Wong y Desmarchelier 1996), se utiliza el término biofumigación. Los efectos sobre el control de hongos han sido señalados por Walker, Morrell y Foster (1937). Se ha demostrado que la hidrólisis de glucosinolatos a isotiocianatos en suelo es baja, de un 15% (Borek *et al.* 1997). Bowers y Locke (1997) estudian el efecto de extractos de trébol, nim, pimienta y cassia sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*, encontrando que al 10% de emulsión se reduce la densidad del hongo, e incluso a un 5% para los extractos con nim, con una eficacia para pimienta, trébol y cassia de 99.9, 97.5 y 96.1 respectivamente, a los tres días de su aplicación, aunque el hongo se recupera rápidamente. Hunter *et al.* (1997) utilizan compost de champiñón en el control de *Cylindrocladium scoparium* en viveros forestales. Sams, Charron y Chardonnet (1997) usan residuos de brasicas en el control de *Botrytis cinerea*, indicando que Urbasch (1984) había aislado los productos responsables del control de *B.cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Didymella lycopersici* y *Clamidosporum fulvum*. Tjamos (1999) en Grecia, al estudiar el interés de la solarización como alternativa al BM, señala que ésta puede mejorar cuando se añade materia orgánica, encontrando que combinando solarización y biofumigación se puede controlar *Sclerotinium cepivorum*, utilizando 1 kg m⁻² de gallinaza. Elena, Paplomatas y Petsikos-Panayotarou (1999) utilizan como abono verde *Lolium perenne* y *Triticum vulgare* en el control de *Fusarium proliferatum* y *F.oxysporum* f.sp. *asparagi* en Grecia, considerando que se debe a fenómenos de anaerobiosis. Villeneuve y Lepaumier (1999) estudian el efecto de la incorporación de la materia orgánica en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotium*, *Verticillium dahliae*, *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp., indicando que estos resultan sensibles al tratamiento, que denomina **biodesinfectación**, pero, si se considera que esta técnica permite la reducción del empleo de los fumigantes, están hablando de una **biofumigación**. En este trabajo señalan que la fermentación de la materia orgánica provoca una modificación de la atmósfera del suelo incrementando el CO₂ y disminuyendo el O₂, dando lugar a fenómenos de anaerobiosis, consiguen de 90-100% de reducción de patógenos (Blok *et al.* 1998) cuando se emplea brasicas y gramíneas, al mismo tiempo que aportan microorganismos exógenos al suelo; resultando que es más eficaz cuando se cubre el suelo con plástico negro que con transparente y que las brasicas al producir isotiocianatos volátiles son más eficaces que los metil-isotiocianatos que se obtienen en la degradación del metam sodio (Brown y Morra 1997), otras plantas de interés es el sorgo (*Sorghum bicolor* o *S.sudanense*) que contiene compuestos de cianídrico. Estos métodos se pueden combinar con la solarización en determinadas épocas del año. Los factores ambientales influyen sobre la calidad y cantidad de glucosinolatos y los compuestos cianídricos (Rose, Heaney y Fenwick 1997), recomiendan

tratamientos de 40 t ha⁻¹ de materia orgánica y en el caso de las brasicas de 65 a 82 t ha⁻¹, y sembrar 20 kg de semillas por hectárea.

Duniway *et al.* (1999) en fresón en California encuentran que la materia orgánica con alto contenido de nitrógeno, restos de sangre, plumas y restos de pescado, 8, 4 y 8 toneladas respectivamente, reduce la incidencia de *Verticillium dahliae* cuando se incorpora 7 semanas antes de plantar. Otara y Ndalut (1999) encuentran que un extracto de hojas de *Conyza floribunda* (Asteraceae) controla el *Fusarium oxysporum in vitro*. Gamliel *et al.* (1999) encuentran que los propágulos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *basilici*, *Sclerotinium rolfsii* y *Pythium ultimum* se reducen en más del 95 % cuando se someten a solarización más materia orgánica con alto contenido de nitrógeno, mejorando el control de los patógenos cuando se combina el tratamiento del suelo con una rotación con trigo. Tenuta y Lazarovits (1999) estudian los mecanismos de control de los patógenos vegetales por materia orgánica con alto contenido de nitrógeno, concluyendo que es una alternativa al BM para determinados suelos, indican que debe ser estudiada la proporción de materia orgánica en cada suelo y campo en concreto, que el contenido de nitrógeno en la materia orgánica debe ser superior a 8% alrededor de 1.600 kg N ha⁻¹ o más de 20 t ha⁻¹ de materia orgánica, siendo letal a los 4-14 días después de incorporado, por lo que se debe plantar después de 1-2 meses de la aplicación. Se demuestra que controla *Verticillium dahliae*, *Streptomyces scabies*, *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* y *Sclerotinia sclerotiorum* en papa. Los experimentos se han mantenido a 24 °C, siendo más eficaz en los pH superiores a 8,5 duplicando la eficacia cuando el pH es superior a 6.

Biofumigación y control de insectos

Matthiessen y Kirkegaard (1993) emplean el término **biofumigación** al tratar de sustituir el uso del metam sodio en el control de *Graphognathus* spp. ("whitefringed weevil") de la papa en Australia, puesto que este producto tiene un amplio espectro de actividad no sólo sobre los organismos causantes de plagas y enfermedades sino también sobre muchos organismos beneficiosos. Estos efectos negativos les hace dudar de la sustentabilidad del metam sodio a largo plazo. Por otro lado, indican que el metam sodio es muy caro y debe ser aplicado cuidadosa y correctamente. Estos autores señalan que su componente activo es el metil isotiocianato (ITC's), un compuesto volátil que se produce sintéticamente por la industria química, sin embargo existen otras fuentes naturales, no solo del metil isotiocianato, sino de otras formas de isotiocianatos (ITC's). Estas fuentes de ITC's se encuentran principalmente en diferentes especies y variedades de brasicas, entre ellas las col, coliflor, mostaza y nabo.

Los estudios realizados han demostrado que los ITC's producidos por las brasicas tienen efecto repelente sobre el "gusano de alambre", aumentado su eficacia cuando estos insectos están en fases tempranas de crecimiento, puesto que tienen menor tamaño y son más susceptibles a los tóxicos. Cuando los huevos del insecto *Graphognathus* spp. ("whitefringed weevil") eclosionan, en el Este de Australia, después de las primeras lluvias de otoño, son muy pequeños (1 mm de longitud), en lugar de crecer y desarrollarse rápidamente, las larvas permanecen en el primer estadio durante muchas semanas debido a las bajas temperaturas del invierno. El crecimiento sólo aparece cuando aumenta la temperatura en primavera. Por todo ello las larvas de este insecto pueden ser controladas por biofumigación antes de plantar papas. En otros casos, las brasicas pueden actuar como repelentes. **El concepto de biofumigación ha estado más relacionado con los organismos patógenos de origen edáfico, siendo nueva esta idea de que puede controlar insectos.** Elberson *et al.* (1996), Borek *et al.* (1997) y Noble y Sams (1999) encuentran que la biofumigación con concentraciones altas de *Brassica juncea* puede controlar larvas de diferentes especies de insectos, incorporando una biomasa de 4 y 8% de suelo.

Biofumigación y control de flora arvense

La aplicación de las técnicas de biofumigación en el control de la flora arvense no tienen el mismo desarrollo que en el de nematodos, hongos e insectos, con la excepción de los proyectos que UNIDO, dentro del Protocolo de Montreal, viene desarrollando como alternativas al BM en países del Artículo 5, donde se han obtenido resultados altamente positivos, que no están aún publicados. Sin embargo son numerosos los trabajos existentes con alelopatías y su interés en el control de la flora arvense, que hasta cierto punto tienen que ver con la biofumigación, pero, sobre todo, cuando se revisan los *Weed Abstracts* fundamentalmente en el apartado de técnicas culturales, se encuentran algunos trabajos sobre el uso de materia orgánica y abonos verdes, que nos permite afirmar que la biofumigación puede ser una alternativa en el control de la flora arvense.

Aponte, Pérez y Tablante (1992) en Venezuela estudian el control de malezas y enfermedades del tomate con la utilización de residuos de cosechas. Pandey (1994a,b) encuentra en la India que los residuos de hoja de *Parthenium hysterophorus* inhiben el crecimiento de *Salvinia molesta*, señalando el interés del trabajo para comprender la dinámica de poblaciones de la flora arvense en los sistemas acuáticos naturales. Edwards, Walker y Webster (1994) estudian el efecto de residuos orgánicos no compostados, con una relación C:N = 30:1, que se modifica al añadirle gallinaza, en algodón en el Norte

de Alabama (EE.UU.), encontrando que la utilización de estos residuos con cubiertas de paja de trigo reduce la flora arvense durante el invierno, no habiendo diferencia entre los tratamientos químicos o no químicos; señalando que los residuos con celulosa tienen gran valor potencial para el manejo del suelo en agricultura. Cloutier, Marcotte y Leblanc (1994) estudian el potencial de 80 especies o variedades para ser utilizadas como abono verde en el control de malas hierbas en Canadá, encontrando que las crucíferas son las más eficaces y en segundo lugar algunas gramíneas como trigo, cebada y avena, y entre las leguminosas, el guisante. Hintzsche y Pallutt (1995) desarrollan un programa de producción integrada donde incluyen abonos verdes para el control de la flora arvense en Alemania. Mathew y Alexander (1995) estudiaron el efecto del abono verde en el control de la flora arvense en arroz en India. Boydston y Hang (1995) estudiaron el efecto del abono verde de *Brassica napus* en el control de la flora arvense en papas EE.UU., encontrando que si se incorporan en primavera, la densidad de la flora arvense se reduce un 73 a 85 %, el abono de nabos se añadió a suelo franco arenoso a 20 g de materia verde por 400 g de suelo. Dyck, Liebman y Erich (1995) demuestran que el uso de abono verde de leguminosas (*Trifolium incarnatum*) producen una considerable reducción de herbicidas y fertilizantes de síntesis en EE.UU. J.M. Zhao y F. Zhao (1995) estudian el manejo del suelo en cultivos de manzana en China, señalando la importancia de las cubiertas orgánicas y los abonos verdes. Abdel-Samie y El-Bially (1996) estudian el efecto de *Azolla* en la supresión de la flora arvense en arroz en Egipto, indicando que fue tan eficaz como cuando se efectúan dos arranques a mano. Álvarez *et al.* (1996) utilizan *Cannavalia ensiformis* como abono verde para controlar malas hierbas en cultivos de *Xantomonas* en Cuba. Nietschke (1996) en el Sur de Australia revisa los métodos de control de avena loca, señalando el interés de los abonos verdes. Al-Khatib, Libbey y Boydston (1997) estudian el efecto supresor de los abonos verdes de brasicas (*Brassica hirta*), centeno o trigo en el control de la flora arvense en cultivos de guisante, encontrando que las brasicas añadidas al suelo a las dosis de 20 g por 400 g de suelo seco reduce la emergencia de *Capsella bursa-pastoris*, *Kochnia scoparia* y *Sestaria viridis* en un 97, 54 y 49 % respectivamente. Beltrán (1997) revisa los efectos alelopáticos y sus mecanismos estableciendo métodos para el control de la flora arvense. Ciuberkis (1997) encuentra que el estiércol reduce la flora arvense en Lituania. Edwards y Walker (1997) estudiaron el uso de residuos orgánicos, incluidos los urbanos, en el control de la flora arvense en algodón en EE.UU. Kim Kilung y Park Kwangho (1997) revisan los componentes alelopáticos aislados de plantas cultivadas, que tienen alto potencial para el control de la flora arvense, especialmente en arroz, remolacha, altramuz, maíz, trigo, avena, guisante, cebada, centeno y pepino. Li Shanlin *et al.* (1997) estudian en China el efecto herbicida de los extractos de trigo y sugieren que se debe a varias sustancias entre ellas el etanol. Webston, Nimal y Czarnota (1997) aíslan productos naturales de *Sorghum bicolor* que son fitotóxicos sobre determinada flora arvense. Quarles (1997) aísla una sustancia herbicida del gluten de maíz. Anju Kamra y Gaur (1998) encuentran que la solarización aplicada en un período de tres a seis semanas y combinada con estiércol reduce los problemas de nematodos, hongos y flora arvense, con la excepción de *Cyperus rotundus*. Dhanapal *et al.* (1998) utilizan extractos de nim, *Ricinus communis* y mostaza en el control de *Orobanche*. Eberlein *et al.* (1998) estudian el efecto supresor para la flora arvense de varios cultivares de *Brassica napus* utilizados como abono verde debido a los glucosinolatos existentes en sus raíces, que actúan como biofumigantes, señalan que la eficacia depende del cultivar. Golpa Krishnan, Holshouser y Nissien (1998) utilizan abono verde de brasicas para la supresión de la flora arvense. Yang, Kim y Chung (1998) estudian *in vitro* el efecto alelopático del extracto de arroz, cebada, avena, centeno y trigo, y encuentran que el alcohol metílico que se encuentra en estos extractos inhibe la germinación de 6 especies de flora arvense: *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Arthraxon hispidus*, *Digitaria adscendens*, *Echinochloa crusgallia* y *Setaria viridis*, además en campo mejoran la producción del cultivo de Ging-seng. Roskopf, Chellemi y Kokalis-Burelle (1999) estudian el efecto de la solarización con compost en el control de la flora arvense en hortalizas de Florida, indicando que los resultados son comparables al BM.

Biofumigación y control de bacterias, virus y postcosecha

En este apartado se dan algunos datos sobre la posible aplicación de la biofumigación en el control de bacterias, virus y postcosecha, tema de investigación que se viene desarrollando especialmente en los últimos años.

Bacterias. La aplicación de materia orgánica produce un incremento de nematodos saprófagos, que reducen la incidencia de las bacterias patógenas de los vegetales, en este sentido conviene señalar que Ryder y Bird (1993) encuentran que el nematodo saprófago *Acrobelus nanus* reduce los problemas de *Restonia corrugata*, indicándonos el valor de la biofumigación en el control de las bacterias, puesto que los nematodos se duplican en los suelos biofumigados. Akiew, Trevorrow y Kirkegaard (1996) estudian el efecto de mostaza y residuos de tabaco en la reducción de *Restonia solanacearum* en tomate. Michel y New (1996) encuentran que la materia orgánica con urea (200 kg N ha⁻¹) y CaO (5.000 kg ha⁻¹), reduce las poblaciones de *Restonia solanacearum* dependiendo del tipo de suelo, siendo efectivo en suelos básicos. Lazarovits, Conn y Kritzman (1997) encuentran que los residuos orgánicos con alto contenido de nitrógeno reducen las poblaciones de *Verticillium dahliae*, la bacteria *Streptomyces scabies*, nematodos y malas hierbas en papa, sin embargo puede producir efectos fitotóxicos en el primer cultivo, aunque el estiércol de cerdo, el estiércol de vaca y algunos compost sólo reducen la bacteria, indicando que esto depende de la especificidad del suelo y de la dosis. Se han encontrado resultados similares en tomates y

frutales, considerando que la materia orgánica es un buen candidato para reemplazar el BM, especialmente en suelos arenosos, durando su capacidad biocida varios años y siendo más económico que el BM, al mismo tiempo que incrementa los organismos del suelo. Michel *et al.* (1997) encuentran efecto supresivo en el abono verde de soja, caupí o residuos de cebolla adicionándole 200 kg ha⁻¹ de nitrógeno ureico y 500 kg ha⁻¹ de CaO reduciendo las poblaciones de *R. solanacearum* en tomate, parece que el efecto supresor se produce durante la transformación de la urea en presencia de CaO.

Virus. La biofumigación puede actuar indirectamente, sobre virus al eliminar hongos, nematodo e insectos vectores. Jacobs *et al.* (1994) señalan la actividad nematocida, antiviral, antifúngica y antibacteriana de *Tagetes patula* y *T. erecta*. Se ha observado en los experimentos de campo que hemos realizado que la incidencia de virus es nula.

Postcosecha. Se ha realizado la aplicación del biogas obtenido de la fermentación de plátanos en la conservación de maíz en Nicaragua, obteniéndose una eficacia del 95 % en el control del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) (Lacayo *et al.* 1996).

BIOFUMIGACIÓN Y SOLARIZACIÓN

Katan (1981) sugiere que la adición de residuos orgánicos al suelo puede incrementar la eficacia de la solarización. Pullman *et al.* (1981) indican que la solarización reduce *Verticillium dahliae* a profundidades de 70-120 cm, consideran que se debe a los gases liberados durante el proceso de solarización, puesto que a esa profundidad la temperatura no tiene efecto letal. Horiuchi *et al.* (1982) observan que la eficacia de la solarización es mayor cuando se incorporan abonos verdes de nabo. Kodama y Fukui (1982) señalaron que es conveniente añadir almidón soluble al medio, 25-30 g kg⁻¹ de suelo seco, para aumentar el efecto de la solarización. Stapleton y de Vay (1986) indican que la reducción de nematodos a profundidades entre 46-91 cm en California se debe a otros factores diferentes de la temperatura. Munnecke (1984) indica que la solarización es eficaz en el control de *Fusarium oxysporum*, cuando se añaden coles, debido a los gases fitotóxicos que se producen en su descomposición.

Garibaldi y Gullino (1991) revisan el empleo de la solarización en los países del sur de Europa, indicando que crea vacío microbiológico y no hay eficacia en aquellas capas donde no llega la radiación solar (30-40 cm), puesto que la solarización se basa en el calentamiento del suelo de 36 a 50 °C y esto sólo ocurre en los primeros 30 cm. Katan y de Vay (1991), en el epílogo de un libro sobre solarización, después de revisar los problemas que se han planteado los investigadores sobre solarización en los 15 últimos años, indican que el futuro del método de solarización está en el uso de plásticos degradables, mejorar la eficacia de la coberturas, encontrar nuevas vías de aplicación de la solarización en el control de los patógenos en el material de propagación, descontaminación del suelo de pesticidas, reducción de la salinidad, y desarrollo de modelos de producción que permitan su aplicación en regiones y períodos fríos del año. De Vay y Katan (1991) indican que existen muchas preguntas sobre la solarización que no tienen respuestas, tales como si el control de los organismos fitoparásitos es posible a profundidades comprendidas entre 60-120 cm en suelos solarizados, cuando la temperatura total necesaria no se alcanza a esa profundidad, y la posible función de las sustancias volátiles en la reducción de los patógenos. Tjamos (1998) hace una excelente revisión de la solarización en los países del Sur de la UE, indicando que es una buena alternativa al BM que incluso puede eliminar bacterias como *Clavibacter michiganensis* (Antoniou, Tjamos y Panagopoulos 1997a,b), aunque los hongos *Monosporascus* sp., *Macrosphmima phaseoli* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* no son fácilmente controlados por solarización (Elena y Tjamos 1992). Se ha considerado que aumentan hongos y bacterias antagonistas termotolerantes induciendo fungistasis después de la aplicación de la solarización, entre ellos *Talaromyces flavus* y *Aspergillus tenuis* (Tjamos, Biris y Papiomatias 1991), *T. flavus* que en presencia de glucosa, la glucooxidasa produce hidrógeno peroxidasa que es letal para los propágulos de *Verticillium dahlia* (Fravel 1988; Kim, Fravel y Papavizas 1988). Stapleton y de Vay (1984) estudian el efecto de la solarización del suelo sobre las bacterias demostrando el efecto beneficioso sobre las especies termófilas de los géneros *Actinomices*, *Bacillus* y *Pseudomonas* que producen antibióticos que reducen las poblaciones del suelo, incrementando las bacterias pectolíticas que favorecen la anaerobiosis. Gambiel y Katan (1991) encuentran efecto beneficioso de la solarización sobre el incremento y supervivencia de *Pseudomonas fluorescens* y *P. putida*. Señalar, por último, que el principal problema de la solarización es el período de duración, por lo que sería de interés optimizar el método con la introducción de bajas dosis de fumigantes y organismos antagonistas, combinando la solarización con agentes de biocontrol, o introducir la supresividad del suelo (Greenberger *et al.* 1987; Katan, de Vay y Greenberger 1989; Katan, Fishler y Grinstein, 1983). Blok *et al.* (1998) estudian en laboratorio el efecto sobre el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* de cinco materiales vegetales diferentes: *Lolium perenne*, *Brassica oleracea convar oleracea var gemmifera*, restos de cultivos, frutales y residuos de jardín compostados, paja de trigo (*Triticum aestivum*) y alfalfa (*Medicago sativa*), que fueron cortados en trozos pequeños de aproximadamente 0,5 cm², aplicando 70 g de peso seco a 100 ml de un suelo franco arenoso con pH 7,5 y un contenido de materia orgánica del 3,3%, se introdujo en botellas de vidrio incubándolo a 11 y 24 °C, encontrando que el consumo de oxígeno fue mayor a 24 °C y que después de 7 semanas no se detecta

el hongo en los tratamientos con alfalfa y brasicas. Posteriormente se repitió el experimento en campo durante el verano de 1994 y 1995 utilizando solo *Brassica oleracea* convar. *botrytis* var. *cymora* y *Lolium perenne*, en parcelas experimentales cubiertas con plástico y sin plástico, estudiando su efecto sobre *F.oxysporum* f. sp. *asparagi*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae* a 15 cm de profundidad en suelo franco arenoso que en el verano de 1994 presenta un pH 6,1 y un contenido de materia orgánica del 31%, aplicando 135 kg N, 240 kg K₂O y 160 kg MgO ha⁻¹, se añadieron las plantas de 4 semanas con un peso fresco de 3,8 kg m⁻² para las brasicas y 4 kg m⁻² para *Lolium*, se incorporó con un rotavator a una profundidad de 20-25 cm y se regó con un aspersor durante toda una noche y se cubrió con plástico. El segundo año (1995) el suelo presentaba un pH 6,5 y un contenido de materia orgánica del 3,4 %, se aplicaron 3,4 kg y 4,0 kg m⁻² de peso fresco para el brócoli y *Lolium* respectivamente, actuando con la misma metodología que el año anterior, se determinó el efecto después de 15 semanas encontrando una eficacia alta en el control de hongos en los suelos cubiertos con plástico, no encontrando alto efecto en el control de *Globodera pallida*, aunque se observó reducción de poblaciones de *Pratylenchus penetrans* y *Meloidogyne fallax*, atribuyen la acción de control a las condiciones de anaerobiosis creadas al incrementar el metabolismo del suelo con la incorporación de la materia orgánica durante el proceso de fermentación; concluyen que el efecto de control no se debe a las sustancias tóxicas volátiles desprendidas durante la descomposición, ya que no se obtiene control de hongos al incorporar brócoli sin plástico, reconocen que las sustancias volátiles se producen pero no permanecen en el suelo el tiempo suficiente para que actúen en el control de los patógenos, concluyendo que la incorporación de materia orgánica puede ser importante pero es inconsistente, señalan que los mecanismos de control están relacionados con la reducción de oxígeno y la toxicidad de los productos químicos formados en condiciones de anaerobiosis, que el bajo nivel de oxígeno no es por si solo suficiente para el control de los patógenos, indicando que no es necesario que se produzcan glucosinolatos para el control, que las diferencias de un año a otro se deben a la cantidad de materia orgánica y existe el peligro de que se recolonizen rápidamente los suelos por los patógenos, resultando que la eficacia depende de la cantidad de materia orgánica, tipo de cobertura y estado de nutrientes en el suelo. Estos resultados los vuelven a publicar posteriormente (Blok *et al.* 2000), señalando únicamente que el control no está relacionado con la temperatura por lo que se diferencia claramente de la solarización, y puede aplicarse en lugares donde la solarización y el encharcamiento no pueden ser aplicados, por lo que lo consideran un nuevo método de control y lo denominan "biological soil disinfestation". Perrin *et al.* (1998) encuentran que las ectomicorrizas fueron de los hongos más sensibles a la solarización. Eleftherohorinos y Giannopolitis (1999) indican que la eficacia de la solarización puede estar relacionada con el balance de los compuestos gaseosos (O₂, CO₂) (Rubin y Benjamin 1984) y con la producción de acetaldehído y etileno siendo efectivo en el control de un espectro amplio de malas hierbas, aunque es menos efectivo en el control de las plantas perennes. Ploeg (2000) encuentra que la combinación de solarización y biofumigación con brócoli en cultivos de melón es eficaz en el control de *M.incognita*. Bello *et al.* (2000c) señalan las diferencias entre solarización y biofumigación en el control de nematodos en cultivos extensivos de zanahoria, no siendo necesarias la aplicación de plástico y las altas temperaturas, aunque ambas técnicas pueden ser complementarias.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se define la biofumigación como "la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de las plantas" (Bello *et al.* 2000). La técnica incrementa su eficacia en el tiempo cuando forma parte de un sistema de producción integrada. Se ha encontrado que, por lo general, cualquier materia orgánica puede actuar como biofumigante, dependiendo su eficacia principalmente de la dosis y del método de aplicación. En España existen buenos ejemplos de su aplicación en cultivos de fresón en Andalucía y Valencia, pimiento en Murcia y Castilla-La Mancha, cucurbitáceas en Valencia, Castilla-La Mancha y Madrid, tomate en Valencia y Canarias, brasicas en Valencia, platanera en Canarias, cítricos y frutales en Valencia, viñedos en Castilla-La Mancha y flor cortada en Valencia (Bello *et al.* 1997, Bello y Melo 1998, Bello y Miquel 1998a,b, Bello *et al.* 1998, Cebolla *et al.* 1999, García *et al.* 1999, Bello *et al.* 2000), también se ha aplicado recientemente a cultivos de acelga en Madrid y zanahoria en Andalucía y Valencia; los biofumigantes más utilizados han sido estiércol de cabra, oveja y vaca, residuos de arroz, champiñón, aceituna, brasicas y jardín (Fig. 2). Se ha obtenido una eficacia similar a los fumigantes convencionales, al mismo tiempo que mejora las características del suelo y la nutrición de la planta, siendo necesario diseñar una metodología para cada situación. Su coste es mínimo puesto que las diferencias con la aplicación de materia orgánica, práctica frecuente en cualquier sistema de producción integrada, están en las características de la materia orgánica y su método de aplicación. Se ha demostrado que tiene la misma eficacia en el control de nematodos, hongos, insectos, bacterias y plantas adventicias que los pesticidas convencionales, pudiendo regular los problemas de virus al controlar los organismos vectores (Bello *et al.* 2000).

La biofumigación es una técnica fácil de aplicación por agricultores y técnicos, pues sólo se diferencia de la aplicación de materia orgánica en la elección del biofumigante, que debe estar en vías de descomposición y en el método de aplicación, que debe tener en cuenta la necesidad de retener al menos durante dos semanas los gases biofumigantes producidos en la biodegradación de la materia orgánica, ya que su efecto en la mayoría de los casos no es biocida sino biostático, por lo que es necesario prolongar

en el tiempo su acción sobre los patógenos. Se ha podido constatar, también, un marcado efecto herbicida. Se ha demostrado que cualquier residuo agroindustrial o sus combinaciones que presente una relación C/N comprendida entre 8-20 puede tener efecto biofumigante, pudiéndose identificar con facilidad por el agricultor, ya que produce un olor característico de amoníaco, aunque conviene recordar que no solo los derivados del nitrógeno tienen efecto biofumigante, por lo que sería recomendable previamente caracterizar de modo experimental los residuos agroindustriales que quieren utilizarse como biofumigante antes de su aplicación de modo comercial.



Figura 2. Áreas, cultivos y biofumigantes aplicados en España

Se debe procurar que durante el transporte y almacenaje en campo no se pierdan los gases producidos en la biodegradación, cubriendo los montones del biofumigante con plásticos hasta el momento de su aplicación. Se recomienda la utilización de una dosis de 50 t ha^{-1} , aunque cuando los problemas de nematodos u hongos sean muy graves, se deben aplicar 100 t ha^{-1} , dosis que se puede reducir mediante las técnicas de cultivo, como la aplicación en surcos. Se debe distribuir el biofumigante uniformemente, para que no aparezcan focos de patógenos que puedan crear problemas en el cultivo. Una vez distribuido el biofumigante, se debe incorporar inmediatamente al suelo mediante un pase de rotavator, dejando la superficie del suelo lisa con la aplicación de la alomadora del rotavator. Se riega, a ser posible por aspersion, hasta que se produce una saturación del suelo, aunque se puede regar a manta o instalar goteros. Se cubre a continuación con plástico para retener, durante al menos dos semanas, los gases producidos en la biodegradación de la materia orgánica.

Cuando los suelos son poco profundos ($< 30 \text{ cm}$), no es necesaria la utilización de plástico, produciéndose la retención de los gases con riegos frecuentes que mantengan una delgada capa de arcilla en la superficie. Se recomienda efectuar la biofumigación cuando la temperatura es superior a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, aunque la temperatura no es un factor limitante. Se puede combinar la biofumigación con la solarización, manteniendo el plástico durante un período de un mes, aunque se ha observado que se produce una disminución de la biodiversidad del suelo. Se recomienda la utilización como biofumigantes de recursos locales, puesto que el principal factor limitante de la biofumigación es el coste del transporte de los materiales orgánicos. Se pueden producir algunos problemas en la fertilización del suelo y la nutrición de la planta como fenómenos de fitotoxicidad y deficiencia de nitrógeno, pero todo ello se puede resolver con una fertilización adecuada.

Es recomendable alternar el empleo de residuos agrarios con abonos verdes, especialmente de brasicas, empleando $5\text{-}8 \text{ kg m}^{-2}$ de materia verde, aunque también se pueden aplicar combinaciones de leguminosas con gramíneas. En el caso de la utilización de abonos verdes cultivados en la misma parcela, deben utilizarse plantas de crecimiento rápido para incorporar al menos a los 30 días de haberlo sembrado e impedir que se incrementen las poblaciones de patógenos. El cultivo de brasicas después de la biofumigación nos puede servir como bioindicadores de la posible fitotoxicidad, puesto que la germinación de las semillas es sensible a las sustancias fitotóxicas, al mismo tiempo que son muy sensibles a los nematodos fitoparásitos y permiten detectar las áreas del cultivo donde la biofumigación no es eficaz, pudiendo actuar como plantas trampa y, al incorporarlas al suelo, como biofumigantes.

Los costes de la biofumigación pueden alcanzar el mismo valor que el BM, especialmente cuando se aplican estiércoles de origen animal o residuos agrarios que hay que traer desde grandes distancias, pero como realmente se trata de la aplicación de una enmienda orgánica, que es una práctica habitual en los

sistemas producción integrada, se puede considerar un coste cero. Los costes se pueden reducir aún más cuando se utilizan abonos verdes, que no suelen superar los 300 \$ EE.UU. por hectárea. Puede aparecer alguna dificultad en los primeros tratamientos de biofumigación, pero a medida que pasa el tiempo, el agricultor se va familiarizando con el método, seleccionando las mezclas de biofumigantes y estableciendo las dosis más eficaces, tanto desde el punto de vista de su eficacia en el control de los patógenos como económico.

La solarización es un método que por si solo no es eficaz, especialmente cuando se trata de controlar organismos móviles como nematodos que por acción del calor se desplazan a zonas más profundas, siendo incorporados de nuevo con las labores a la superficie del suelo. En los casos donde la solarización ha sido eficaz, se trata por lo general de suelos con alto contenido de materia orgánica (solarización más biofumigación), o de suelos poco profundos. La solarización es eficaz cuando se combina con biofumigación, durante dos meses, a una temperatura ambiental superior a 40 °C (Lacasa *et al.* 1999), aunque se recomienda de 30 a 45 días durante los meses de julio y agosto, que es cuando la temperatura del suelo alcanza temperaturas superiores a 50 °C. Hemos observado que se produce una pérdida en la biodiversidad del suelo. La solarización resulta eficaz cuando se combina con bajas dosis de fumigantes comerciales, reduciendo el impacto ambiental de estos pesticidas, resultando una buena alternativa en los cultivos de fresón en Huelva y zanahoria en Cádiz. La combinación de la solarización con fumigantes como el metam sodio, a dosis muy reducidas (100 cc m²), es una práctica bastante frecuente en España. Los resultados son equiparables a los de el BM (Bolívar 1999, Romero 2000).

Biofumigation, solarization and nematode control

Summary. The action of gases discharged by the decomposition of organic matter is studied for the control of nematodes and soil-borne organisms. Effectiveness is similar to conventional biofumigants, differing from solarization in that temperatures over 30 °C are not required. Therefore it can be used in different seasons of the year and in areas having low temperatures, as well as on extensive crops. On the other hand, biofumigation acts in depth, in the case of nematodes solving problems of vertical dynamics, which are common to all mobile organisms, caused when the soil is heated by solarization. Results of the application of biofumigation techniques in extensive crops are shown under low temperature conditions and without the application of plastic covers. This is different from solarization, although both techniques can be complementary, increasing their effectiveness in the case of phytopathogenic nematodes.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Samie, F.S.; M.E. El-Bially. 1996. *Azolla* and chemical as well as manual weed control methods in two rice varieties. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor* 34, 125-138.
- Akiew, S.; P.R. Trevorrow; J.A. Kirkegaard. 1996. Mustard green manure reduces bacterial wilt. *ACIAR Bacterial Wilt Newsletter* 13, 5-6.
- Al-Katib, K.; C. Libbey; R. Boydston. 1997. Weed suppression with *Brassica* green manure crops in green pea. *Weed Science* 45, 439-445.
- Allen, L.H.; D.R. Sotomayor; D.W. Dickson; Z. Chen. 1997. Soil flooding during the off-season as an alternative to methyl bromide. *International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 94, 1-2.
- Álvarez, M.; M. García; E. Treto; L. Fernández. 1996. Efecto de diferentes tipos de leguminosas intercaladas sobre el rendimiento de la malanga. *Cultivos Tropicales* 17, 5-8.
- Angus, J. F.; P. A. Gardner; J. A. Kirkegaard; J. M. Desmarchelier. 1994. Biofumigation: Isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant and Soil* 162, 107-112.
- Angus, J.F.; A.F. van Herwaarden; G.N. Howe. 1991. Productivity and break-crop effect of winter growing oilseeds. *Aust. J. Exp. Agric.* 31, 669-677.
- Anju Kamra; H. S. Gaur. 1998. Control of nematodes, fungi and weeds in nursery beds by soil solarization. *International Journal of Nematology* 8, 46-52.
- Antoniou P. P., E.C. Tjamos, C.G. Panagopoulos. 1997a. Reduced doses of methyl bromide, impermeable plastics and solarization against *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* of cucumbers and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* of tomatoes. *Proceedings of the 10th Mediterranean Phytopathological Congress*. Montpellier, France, 653-655.
- Antoniou P. P., E.C. Tjamos, C.G. Panagopoulos. 1997b. Sensitivity of propagules of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, *Verticillium dahliae*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* to reduced doses methyl bromide fumigation in combination with impermeable plastics. *Phytopathologia Mediterranean*

(abstract In press).

Aponte, A.; A. Pérez; J. Tablante. 1992. Control de malezas y plagas en tomate con la utilización de residuos de cosecha. *FONAIAP Divulga* 9, 10-15.

Arias, M.; J. A. López-Pérez; R. Sanz; M. Escuer. 1999. Alternatives to methyl bromide to control nematodes in a cucumber-swiss chard rotation in greenhouses. Abstract of XXXI Annual Meeting ONTA, 21-25 June, 1999, San Juan, Puerto Rico. *Nematropica* 29, 115.

Barker, K. R.; S. R. Koenning. 1998. Developing sustainable systems for nematode management. *Ann.Rev.Phytopathol.* 36, 165-205.

Bello, A. 1997. La retirada del bromuro de metilo como fumigante. Consecuencias para la agricultura española. *Vida Rural* 45, 70-72.

Bello, A. 1998. Biofumigation and integrated pest management. In: A. Bello; J. A. González; M. Arias; R. Rodríguez-Kábana (Eds). *Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. Phytoma España, DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 99-126.

Bello, A.; M. Escuer; M. Arias. 1994. Nematological problems, production systems and Mediterranean environments. *Bulletin OEPP* 24, 383-391.

Bello, A.; M. Escuer; J. A. López-Pérez; M. Arias. 1996. Ecología del suelo y su interés agronómico en el control de nematodos. *IV Congreso de la Sociedad Española de la Ciencia del Suelo*. Lérida, España, 339-344..

Bello, A.; M. Escuer; M. A. Pastrana. 1995. Nematodos fitoparásitos de la alcachofa. *Horticultura* 165, 535-538.

Bello, A.; M. Escuer; R. Sanz; J. A. López-Pérez; P. Guirao. 1997. Biofumigación, nematodos y bromuro de metilo en el cultivo de pimiento. In: A. López; J. A. Mora (Eds). *Posibilidad de Alternativas Viables al Bromuro de Metilo en Pimiento de Invernadero*. Consejería de Medioambiente, Agricultura y Agua, Murcia, España, 67-108.

Bello, A., M. Escuer; J. Tello. 1999. Problemas nematológicos de los cultivos de Guatemala y su manejo agronómico. *Abstracts of the XXXI Annual Meeting ONTA*, June 21-25, 1999, San Juan, Puerto Rico. *Nematropica* 29, 116-117.

Bello A., J.A. González, J. Pérez Parra, J. Tello. 1997. *Alternativas al Bromuro de Metilo en Agricultura*. Junta Andalucía, Sevilla 44/97, 192 pp.

Bello A., J.A. González, M. Arias, R. Rodríguez-Kábana. 1998. *Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. Phytoma-España, DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 404 pp.

Bello, A.; J. A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; L. de León; R. Sanz; M. Escuer. 1999a. Local resources as methyl bromide alternatives in nematodes control. *Abstracts of the XXXI Annual Meeting ONTA*, June 21 25, San Juan, Puerto Rico. *Nematropica* 29, 116.

Bello, A.; J.A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; R.Sanz; M.Arias. 1999b. 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, Heracion, Creta, Grecia, 17 p.

Bello, A.; J.A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; R.Sanz; M.Arias. 2000a. Biofumigation and local resources as methyl bromide alternatives. *Nematropica*. (en prensa)

Bello, A.; J.A. López-Pérez; R.Sanz; M.Escuer; J.Herrero. 2000b. Biofumigation and organic amendments. *Regional Workshop on Methyl Bromide Alternatives for North Africa and Southern European Countries*, United Nations Environment Programme (UNEP), Francia, 113-141.

Bello, A.; J.A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; R.Sanz. 2000c. Biofumigation, solarization and nematode control. *XXV International Nematology Symposium*, April 2-7, 2000, Herzliya, Israel.

Bello, A.; J.A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; J. Tello. 2000. Alternativas al bromuro de metilo como fumigante del suelo en España. In: R. Labrada (Ed.) *Report on Validated Methyl Bromide Alternatives*. FAO, Rome, 13 pp (in press).

- Bello, A.; M.J. Melo. 1998. Reducción de las poblaciones de nematodos con técnicas alternativas al bromuro de metilo. In: *Memoria de Actividades 1998, Resultados de Ensayos Hortícolas*, Generalitat Valenciana, Fundación Caja Rural de Valencia, 347-350.
- Bello, A.; E. Miquel. 1998a. Control nematodos por biofumigación. In: *Memoria de Actividades 1998, Resultados de Ensayos Hortícolas*, Generalitat Valenciana, Caja Rural de Valencia, 351-352.
- Bello, A.; E. Miquel. 1998b. Control nematodos por biofumigación en cultivo de col china. In: *Memoria de Actividades 1998, Resultados de Ensayos Hortícolas*, Generalitat Valenciana, Caja Rural, Valencia, 353-354.
- Bello A.; J. Tello. 1998. El bromuro de metilo se suprime como fumigante del suelo. *Phytoma-España* 101, 10-21.
- Beltrán, L. 1997. ¿La alelopatía; ciencia o fenómeno? *Cultivos Tropicales* 18, 47-58.
- Blok, W.J.; J.G. Lamers; A. J. Termorshuizen; G.T. Bollen. 2000. Control of soil-borne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90, 253-259.
- Blok, W.J.; C.P. Slomp; A.J. Termorshuizen; J.A. Lamers. 1998. Control of soil-borne pathogens by inducing soil anaerobiosis. *Phytoparasitica* 26, 244.
- Bolívar, J.M. 1999. Current status of methyl bromide alternatives in Spain. *3rd International Workshop Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. 7-10 December, Creta (Greece), 139-140.
- Borek, V.; L.R. Elbertson; J.P. McCaffrey; M.J. Morra. 1997. Toxicity of rapeseed meal and methyl isothiocyanate to larvae of the black vine weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entom.* 90, 109-112.
- Bowers, J.H.; J.C. Locke. 1997. Effect of botanical extracts on soil populations of *Fusarium* and other soil-borne pathogens. *International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 2, 1-4.
- Boydston, R.A.; A. Hang. 1995. Rapeseed (*Brassica napus*) green manure crop suppresses weeds in potato (*Solanum tuberosum*). *Weed Technology* 9, 669-675.
- Brown, P.D.; M.J. Morra. 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advan. Agron.* 61, 167-231.
- Calderón, L.; F. Solís; E. Trabanino; E. Barillas; E. García. 2000. The effect of alternative treatments as methyl bromide for nematode control in different crops: 1998-1999. *Abstract. XXXII Annual Meeting of ONTA*, 16-20 abril, Auburn, Alabama, O-7, 48.
- Candole, B.L.; C.S. Rothrock. 1997. Characterization of the suppressiveness of hairy vetch-amended soils to *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology* 87, 197-202.
- Canullo, G. H.; R. Rodríguez-Kábana; J. W. Kloepper. 1992a. Changes in populations of microorganisms associated with the application of soil amendments to control *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Plant and Soil* 144, 59-66.
- Canullo, G. H.; R. Rodríguez-Kábana; J. W. Kloepper. 1992b. Changes in soil microflora associated with control of *Sclerotium rolfsii* by furfuraldehyde. *Biocontrol Science and Technology* 2, 159-169.
- Cebolla V.; R. Bartual; A. Giner; J. Busto; F. Pomares; S. Zaragoza; J.J. Tuset; P. Caballero; M. Mut; B. Cases; M.D. de Miguel; P. Fombuena; J.V. Maroto; A. Miguel; J.L. Porcuna. 1999. Chemical and non chemical alternatives to methyl bromide in the area of Valencia. *3rd International Workshop Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. 7-10 December, Creta (Greece), 141-145.
- Chan M.Y.K.; R.C. Close. 1987. Aphanomyces root rot of peas. 3. Control by the use of cruciferous amendments. *N.Z.J. Agric. Res.* 30, 225-233.
- Ciuberkis, S. 1997. Ecological significance of long term fertilization with farmyard manure and soil reaction on weed flora. In *Integrated Plant Protection: Achievements and Problems. Proceedings of the Scientific Conference Devoted to the 70th Anniversary of Plant Protection Science in Lithuania, Dotnuva-Akademija, Lithuania, 7-9 September 1997*, 184-187.
- Cloutier, D.C.; R. Marcotte; M.L. Leblanc. 1994. Evaluation du potentiel des cultures intercalaires et des

- engrais verts contre les populations de mauvaises herbes. In *Maitrise des adventices par voie non chimique. Communications de la Quatrieme Conference Internationale, Dijon, France, 5-9 July 1993.* 2, 201-205.
- Cook, R. J.; K. R. Barker (Eds). 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens.* St. Paul American Phytopathological Society, 539 pp
- Culbreath, A. K.; R. Rodríguez-Kábana; G. Morgah-Jones. 1985. The use of hemicellulosic waste matter for reduction of the phytotoxic effects of chitin and control of root-knot nematode. *Nematropica* 15, 49-75.
- Dhanapal, G.N.; P.C: Struik; P.C.J.M. Timmermans; S.J. ter Borg. 1998. Postemergence control of broomrape with natural plant oils. *Journal of Sustainable Agriculture* 11, 5-12.
- Díaz-Viruliche, L.; A. Pinilla; J.A. López-Pérez; A. Bello. 2000. Biominerales y efecto biofumigante de los abonos verdes. XXXII Annual Meeting of the Organization of Nematologist of Tropical American (ONTA), April 16-20, 2000, Auburn, Alabama, USA. 51.
- Duniway, J.M.; C.L. Xiao; H.Ajiwa; W.D. Gubler. 1999. Chemical and cultural alternatives to methyl bromide fumigations of soil for strawberry. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, Nov. 1-4, 1999, San Diego, California, 2, 2 pp.
- Duplessis, M. C. F.; W. Kroontje. 1964. The relationship between pH and ammonia equilibrium in soil. *Proc. Soil Sci. Soc. America* 28, 751-754.
- Dyck, E.; M. Liebman; M.S. Erich. 1995. Crop-weed interference as influenced by a leguminous or synthetic fertilizer nitrogen source: I. Doublecropping experiments with crimson clover, sweet corn and lambsquarters. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 56, 93-108.
- Eberlein, C.V.; M.J. Morra; M.J. Guttieri; P.D. Brown; J. Brown. 1998. Glucosinolate production by five field-grown *Brassica napus* cultivars used as green manures. *Weed Technology* 12, 712-718.
- Edwards, J.H.; R.H. Walker. 1997. Using organic residuals on highly erodible soil. *BioCycle* 38, 56-57.
- Edwards, J.H.; R.H. Walker; W.B. Webster. 1994. Effect of non-composted organic waste as residues on cotton yields. *Proceedings Beltwide Cotton Conferences, January 5-8, San Diego, California. National Cotton Council, 1561-1563.*
- Elberson, L.R.; V. Borek; J.P. McCaffrey; J. Morra. 1996. Toxicity of rapeseed meal-amendment soil to wireworms, *Limonius californicus* (Coleoptera: Elateridae). *J. Agric. Entomol.* 13, 323-330.
- Eleftherohorinos, I.G.; C.N. Giannopolitis. 1999. Alternatives to methyl bromide for the control of weeds in greenhouses and seed beds. *Proceedings of International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries", Heraklio, Creta, Grecia, 34-36.*
- Elena, K.; E.J. Paplomatas; N. Petsikos-Panayotarou. 1999. Bio-disinfestation: an alternative method to control soil pathogens. *Proceedings of International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries", Heraklio, Creta, Grecia, 81-82.*
- Elena K., E.C. Tjamos. 1992. Control of *Fusarium* wilt of carnation by soil solarization singly or in combination with fungal or bacterial biocontrol agents. pages 75-78. In: E. C. Tjamos, G.C. Papavizas, R.J. Cook (Eds). *Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenges for the Future., NATO ASI Series A, Life Sciences, Plenum Press, vol. 230.*
- Eno, C. F.; W. G. Blue; J. M. Jr. Good. 1955. The effect of anhydrous ammonia on nematodes, fungi, bacteria, and nitrification in some Florida soils. *Proc. Soil Science Society of America* 19, 55-58.
- Fernández, C.; R. Rodríguez-Kábana; J.W. Kloepper. 2000. Approaches to measuring microbial contributions to soil suppressiveness by measuring soil enzymes. Abstract. XXXII Annual Meeting of ONTA, 16-20 April, Auburn, Alabama, W-1, 20.
- Fieldsend, J.; G.F.J. Milford. 1994. Changes in glucosinolates during crop development in single- and double-low genotypes of winter oilseed rape (*Brassica napus*): I. Production and distribution in vegetative tissues and developing pods during development and potential role in the recycling of sulphur within the crop. *Ann. Appl. Biol.* 124, 531-542.
- Fravel D.R. 1988. Biocontrol Of *Verticillium* wilt of eggplant and potato. Pages 487-492. In : E.C. Tjamos,

- C.H. Beckman (Eds). *Vascular Wilt Diseases of Plants*. Springer-Verlag, Berlin. 590 pp.
- Galper, S.; E. Cohn; Y. Spiegel; Y. Chet. 1991. A collagenolytic fungus, *Cunninghamella elegans*, for biological control of plant parasitic nematodes. *J.Nematol.* 23, 269-274.
- Gamliel A.; M.Austerweil; G.Kritzman, I.Pérez. 1999. Combined organic amendments with soil heating to control soil-borne plant pathogens. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, Nov. 1-4, 1999, San Diego, California, 27, 1-2 pp.
- Gamliel A., J. Katan. 1991. Involvement of fluorescent *Pseudomonas* and other micro-organisms in increased growth response of plants in solarized soils. *Phytopathology* 81, 494-502.
- Gamliel, A.; J. J. Stapleton. 1993. Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. *Phytopathology* 83, 99-105.
- García, S.; F. Romero; J. J. Sáez; A. de Miguel; C. Monzó; V. Demófilo; M. Escuer; A. Bello. 1999. Problemática de la replantación de melocotoneros en terrenos arenosos en la comarca de La Rivera (I). *Comunitat Valenciana Agraria* 13, 43-49.
- García,R.; J.E. Poot. 1997. Cropping systems and soil-borne diseases in México. XXIX Annual Meeting, June 29th to July 4th, Cancún, México, 23 p.
- Garibaldi, A.; M. L. Gullino. 1991. Soil solarization in Southern European countries, with emphasis on soilborne diseases control of protected crops. In: J. Katan; J. E. de Vay (Eds). *Solarization*. CRC Press Boca Raton Ann Arbor Boston, London, UK, 227-235.
- Golpa Krishnan; D.L. Holshouser; S.J. Nissien. 1998. Weed control in soybean (*Glycine max*) with green manure crops. *Weed technology* 12, 97-102.
- Gooday, G. W. 1990. The ecology of chitin degradation. In: K. C. Marshall (Eds). *Advances in Microbial Ecology*, Vol. II. Plenum Press, New York, USA, 387-430.
- Greenberger A., A. Yogev, J. Katan. 1987. Induced suppressiveness in solarized soils. *Phytopathology* 77, 1663-1667.
- Gyldenkaerne, S.; D. Yohalem; E. Hvalzøe. 1997. Production of Flowers and Vegetables in Danish Greenhouses Alternatives to Methyl Bromide. Ministry of Environment and Energy, Denmark, Danish Environmental Protection Agency, 35 pp.
- Hewlett, T.E.; D.W. Dickson. 2000. Efficacy of tannis for control of root-knot nematodes. Abstract. XXXII Annual Meeting of ONTA, 16-20 abril, Auburn, Alabama, O-29, 57.
- Hintzsche,E.; B.Pallut. 1995. Increasing occurrence of creeping thistle. Zunehmendes Auftreten der Ackerkratzdistel. *PSP Pflanzenschutz Praxis* 3, 23-25.
- Hoitink, H. A. 1988. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Ann.Rev.Phytopathol.* 24, 93-114.
- Hoitink, H.A. 1997. Disease suppressive compost as substitutes for methyl bromide. International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 1, 1-2.
- Horiuchi, S.; M. Hori; S. Takashi; K. Shimuzu. 1982. Factors responsible for the development of clubroot-suppressing effect in soil solarization. *Bull.Chugoku Nat.Agric Exp.Stn.* E20, 25.
- Huebner, R. A.; R. Rodríguez-Kábana; R. M. Patterson. 1983. Hemicellulosic waste and urea for control of plant parasitic nematodes: effects on soil enzyme activities. *Nematropica* 13, 37-45.
- Hunter, B.B.; T. Hall; M.T. Lyons; T.K. Bell. 1997. Field application of sewage and spent mushroom compost in conjunction with Basamid, a fumigant, to control the root pathogen, *Cylindrocladium scoparium*, in forest nursery soils. International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 45, 1-4.
- Jacobs, J. J.; A. Engelberts; A. F. Croes; G. J. Wullems. 1994. Thiophene synthesis and distribution in young developing plants of *Tagetes patula* and *Tagetes erecta*. *Journal of Experimental Botany* 45, 1459-1466.

- Katan, J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soil-borne pests. *Annu.Rev.Phytopathol.* 17, 211.
- Katan, J.; G. Fishler; A. Grinstein. 1983. Short and long-term effects of soil solarization and crop sequence on Fusarium wilt and yield of cotton in Israel. *Phytopathology* 73, 1215-1219.
- Katan, J.; J. E. de Vay (Eds). 1991. *Solarization*. CRC Press Boca Raton Ann Arbor, Boston, London, 267 pp
- Katan J., J.E. de Vay, A. Greenberger. 1989. The biological control induced by soil solarization. In: E.C.Tjamos, C.H. Beckman (Eds), *Vascular Wilt Diseases of Plants*, 493-499.
- Kim K.K., D.R. Fravel, G.C. Papavizas. 1988. Identification of a metabolite produced by *Talaromyces flavus* as glucose oxidase and its role in the biocontrol of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 78, 488-492.
- Kim, K. D.; S. Nemeč; G. Musson. 1996a. Control of *Phytophthora* stem rot of pepper with compost and soil amendment in the greenhouse. International Research Conference on Methyl Bromide, Alternatives and Emissions Reductions. Methyl Bromide Alternatives Outreach, US Dept.of Agriculture, Florida, USA 100, 1-3.
- Kim, K. D.; S. Nemeč; G. Musson. 1996b. Effect of compost and soil amendments on soil microflora and *Phytophthora* stem rot of pepper. International Research Conference on Methyl Bromide, Alternatives and Emissions Reductions. Methyl Bromide Alternatives Outreach, US Dept.of Agriculture, Florida, USA 101, 1-3.
- Kim Kilung; Park Kwangho. 1997. Weed management using a potential allelopathic crop. *Korean Journal of Weed Science* 17, 80-93.
- Kirkegaard, J.A.; J.F. Angus; P.A. Gardner; H.P. Cresswell. 1993a. Benefits of brassica break crops in the Southeast wheatbelt. *Proc. 7th Aust. Agron. Cons. Adelaide*, 19-24 Sept., 282-285.
- Kirkegaard, J. A.; J. Gardner; J. M. Desmarchelier; J. F Angus. 1993b. Biofumigation using Brassica species to control pest and diseases in horticulture and agriculture. In: N. Wrather; R. J. Mailes (Eds). *Proc. 9th Australian Research Assembly on Brassicas (Wagga Wagga)* . 77-82.
- Kirkegaard, J.A.; M. Sarwar. 1998. Biofumigation potential of brassicas: I. variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil* 201, 71-89.
- Kirkegaard, J.A.; P.T.W. Wong; J.M. Desmarchelier. 1996. In vitro suppression of fungal root pathogens of cereals by Brassica tissues. *Plant Pathol.* 45, 593-603.
- Kjaer, A. 1976. Glucosinolates in cruciferae. In: J.G.Vaughan, A.J.Macleod, B.M.G.Jones (Eds). *The Biology and Chemistry of the Cruciferae*, Academic Press, London, 207-219.
- Kodama, T.; T. Fukui. 1982. Application of solar heating with plastic-film mulching in the outdoor field for control of Fusarium wilt of strawberries. *Ann.Phytopatol.Soc.Jpn.*48, 699. 48, 699-699.
- Lacasa A., P. Guirao, M.M. Guerrero, C. Ros, J.A. López-Pérez, A. Bello, P. Bielza. 1999. Alternatives to methyl bromide for sweet pepper cultivation in plastic greenhouses in south east. 3rd International Workshop Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries. 7-10 December, Creta (Greece), 133-135.
- Lacayo, C.H.M.; C.C. Gómez; C.G. Gutiérrez; Q. Díez. 1999. Control de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Cucurculionidae) con CO₂ obtenido de diferentes fuentes orgánicas en silos metálicos de cuatro hembras. VI Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas. Sept 29-oct.4, Acapulco, México, 95 p.
- Lazarovits, G.; K.Conn; G.Kritzman. 1997. High nitrogen containing organic amendments for the control of soilborne plant pathogens. International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, Nov. 3-5, 1997, San Diego, California, 3, 1-2.
- Li Shanlin; You Zhenguo; Liang; Duxiang; Li Sunrong; Wang Nanjin. 1997. Extraction and separation of allelochemicals in wheat and its herbicidal efficacy on *Imperata cylindrica*. *Acta Phytophylacica Sinica* 24, 81-84.
- Mahendra Singh; R. Samar; G. L. Sharma. 1998. Effect of various levels of organic carbon on the development of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne incognita*. *Indian J.Nematol.* 28, 72-76.
- Mathew, G.; D. Alexander. 1995. Influence of intercropped green manure crops on weed pressure and

grain yield of semi dry rice. *Madrás Agricultural Journal* 82, 66-67.

Matthiesen, J. N.; J. A. Kirkegaard. 1993. Biofumigation, a new concept for 'clean and green' pest and disease control. *Western Australian Potato Grower* October, 14-15.

MBTOC. 1997. Report of the Technology and Economic Assessment Panel. UNEP, Nairobi, Kenya, 221 pp.
MBTOC. 1998. Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. 1998 Assessment of Alternatives to Methyl Bromide, UNEP, Nairobi, Kenya, 354 pp

Mian, I. H.; G. Godoy; R. Rodríguez-Kábana; G. Morgah-Jones. 1982. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica* 12, 71-84.

Mian, I. H.; R. Rodríguez-Kábana. 1982a. Soil amendments with oil cakes and chicken litter for control of *Meloidogyne arenaria*. *Nematropica* 12, 205-220.

Mian, I. H.; R. Rodríguez-Kábana. 1982b. Organic amendments with high tannin and phenolic contents for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica* 12, 221-234.

Michel, V.V.; T.W. New. 1996. Effect of a soil amendment on the survival of *Ralstonia solanacearum* in different soils. *Phytopathology* 88, 300-305.

Michel, V.V.; J.F. Wang; D.J. Midmore; G.L. Hertman. 1997. Effects of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil-borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. *Plant Pathology* 46, 600-610.

Mojtahedi, H; G. S. Santo; A.N. Hang; J.H. Wilson. 1991. Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure. *J. Nematol.* 23, 170-174.

Munnecke, D.E. 1984. Establishment of microorganisms in fumigated avocado soil to attempt to prevent reinvasion of the soils by *Phytophthora cinnamomi*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 83, 287.

Nanda, R.; S.C. Bhargava, D.P.S. Tomar; H.M. Rawson. 1996. Phenological development of *Brassica campestris*, *B. juncea*, *B. napus* and *B. carinata* grown in controlled environments and from 14 sowing dates in the field. *Field Crops Res.* 46, 93-103.

Nietschke, B.S. 1996. Cultural weed management of wild oats. In *Wild Oats, Annual Ryegrass and Vulpia*. Proceedings of a Workshop held at Orange, New South Wales, Australia on 26-27 March 1996, P.

Dowling; R.Medd (Eds) *Plant Protection Quarterly* 11, 187-189.

Noble, R.R.P.; C.E. Sams. 1999. Biofumigation as an alternative to methyl bromide for control of white grub larvae. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, Nov. 1-4, 1999, San Diego, California, 92, 3 pp.

Oliveira, A.E.A.; V.M. Gomes; M.P. Sales; K.V.S. Fernandes; C.R. Carlini; J. Xavier-Filho. 1996. The toxicity of jack bean (*Cannavalia ensiformis* (L.) D.C.) can a toxin to plant pathogenic fungi. *Revista Brasileira de Biologia* 59, 59-62.

Otara, C.O.; P.K. Ndalut. 1999. Application of *Conyza floribunda* extractives to control soil pathogens in tomato fields. Annual Intern. Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions, Nov. 1-4, 1999, San Diego, California, 20, 1 p.

Pandey, D.K. 1994a. Inhibition of salvinia (*Salvinia molesta* Mitchell) by parthenium (*Parthenium hydroporus* L.). I. Effect of leaf residue and allelochemicals. *Journal of Chemical Ecology* 20, 3111-3122.

Pandey, D.K. 1994b. Inhibition of salvinia (*Salvinia molesta* Mitchell) by parthenium (*Parthenium hydroporus* L.). I. Relative effect of flower, leaf, stem and root residue on salvinia and paddy. *Journal of Chemical Ecology* 20, 3123-3131.

Papavizas, G.C.; C.B. Davey. 1960. Rhizoctonia disease of bean as affected by decomposing green plant materials and associated microfloras. *Phytopathology* 60, 516-522.

Parker, N.; A. C. Haywards; G. R. Stirling. 1988. Effect of chitinolytic soil bacteria on root-knot nematode eggs. Fifth International Congress of Plant Pathology, Abstracts of Paper, Kyoto, 157.

Perrin, R.; P. Camporota; M.L. Soulas; B. Le Bihan. 1998. The management of mycorrhizal symbiosis and

solarization as an alternative to soil fumigation. In: A. Bello; J. A. González; M. Arias; R. Rodríguez-Kábana (Eds). *Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 301-310.

Pimentel, D.; L. McLaughlin; A. Zeep; B. Lakistan; T. Kraus; P. Kleinman; F. Vancini; W. J. Roach; E. Graap; W. S. Keeton; G. Selig. 1993. Environmental and economic effect of reducing pesticide use in agricultura. *Agriculture, Ecosystems and En*